

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

العلمي والبحث العالي التعليم وزارة

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

بومرداس بوقرة امحمد جامعة

**Université M'Hamed Bougara de Boumerdès**



**Faculté des Sciences  
Département de Biologie**

**Mémoire de projet de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master II**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Biotechnologie**

**Spécialité : Biotechnologie végétale et amélioration de plantes**

**Thème**

**Docking moléculaire de deux molécules bioactives d'origine végétale contre le  
SARS-CoV-2**

**Réalisé par :**

M<sup>lle</sup> NADJI Radia

M<sup>lle</sup> HAFSAOUI Khaoula

M<sup>lle</sup> SAOUDIA Khadidja

**Le jury :**

<b>M<sup>me</sup> KHEMILI-TALBI</b>	<b>Souad</b>	<b>MCA</b>	<b>UMBB</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>M<sup>me</sup> SAYEH</b>	<b>Amna</b>	<b>MAA</b>	<b>UMBB</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>M<sup>me</sup> SADAoui</b>	<b>Nesrine</b>	<b>MAB</b>	<b>UMBB</b>	<b>Promotrice</b>

***Année universitaire : 2020/2021***

## Remerciements



*Avant tout, on remercie Dieu le tout Puissant, de nous avoir donné la force, la patience et la volonté pour accomplir ce travail.*

*Il est difficile d'exprimer, en quelques lignes, nos remerciements à l'égard de notre promotrice, **Dr. SADAOUI-SMADHI Nesrine**, enseignante de bioinformatique à la faculté des sciences de la nature et de la vie (UMBB).*

*En effet, nous avons le privilège d'être encadrées et orientées par elle, d'apprécier ses qualités et ses valeurs. On la remercie pour la confiance qu'elle a placée en nous durant cette période de recherche.*

*Nous lui témoignons notre gratitude pour ses conseils qui nous ont été très utiles et qui nous le seront toujours. Il est, à nos avis, difficile de trouver une aussi bonne directrice de mémoire tant d'un point de vue scientifique que d'un point de vue humain. Son sérieux, sa gentillesse beaucoup plus, ses compétences et son savoir nous ont énormément marqués.*

*Ce travail est donc pour nous, l'occasion de lui témoigner, nos profondes gratitude pour ses aides et sa disponibilité.*

*Nos remerciements sont adressés à **M<sup>me</sup>. SAYEH Amina** qui nous a fait l'honneur de présider le jury de notre thème.*

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à **M<sup>me</sup>. KHEMILI-TALBI Souad** de nous avoir fait l'honneur d'examiner notre travail. Veuillez accepter l'expression de notre profond respect.*

*On veut adresser nos remerciements aussi à **Mr. BELHI Ibrahim** pour son aide pratique et son soutien moral et son encouragement.*

*On remercie chaleureusement tous nos enseignants du Département, pour leurs soutiens, Et finalement, mille mercis à notre famille et à nos amis qui nous ont particulièrement épaulées durant cette année 2021*



# Dédicace

*Je remercie d'abord le bon dieu « Allah » de m'avoir donné le courage et la patience pour accomplir ce travail.*  
*Je dédie ce modeste travail à ...*

*Ma très chère mère*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi.*

*Maman, tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.*

*Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.*

*Puisse dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

*A la mémoire de mon père et mon frère Aboubaker*

*Autant de phrase et d'expressions aussi éloquents soit-elles ne sauraient exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous.*

*A mon très cher frère hassen, et mes très chères sœurs, Asma et Hassina.*

*A ma belle-sœur Meriem.*

*A tous les membres de mes familles, ma cousine khaoula ...*

*A toutes mes amies surtout Manel ...*

*A mon fiancé Ahmed et tous les membres de sa famille*

*Khaoula Hafsaoui*



# *Dédicace*

*Je dédie ce travail :*

*A mes très chers parents :*

*Je ne pourrai jamais assez-vous dire merci pour le soutien les conseils les encouragements et les prières qui m'ont accompagnée tout au long de mes études.*

*Ce travail est le fruit de tous vos sacrifices, que mieux que des mots, ils traduisent tout l'amour que je ressens pour vous.*

*Que Dieu vous garde*

*A ma chère sœur : Imene*

*A mes chers frères : Housseem Lounis*

*A mon neveu : Mohamed Massinissa*

*A ma cousine : Siheme*

*Aux étudiants de la promotion 2021 Master II Biotechnologie Végétale*

*Aux amis et personne que j'ai connue mais je n'ai pas pu les citer*

*Radia*

# Dédicace

*Je dédie cette thèse Aux êtres les plus chers: Mes parents,*

*A mon père :*

*Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Pour son enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et pour ses précieux conseils. J'espère que cette thèse sera à la hauteur de tes attentes et qu'elle soit l'accomplissement de tous tes efforts.*

*A ma mère :*

*Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien sans égal dans les moments les plus difficiles de ma vie. Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous MES CHERS PARENTS que je le dois, que Dieu vous garde.*

*A mes Chers sœurs : Bouchera, Hadile, Kenza, Amina Samira*

*A mon petit frère: Ibrahim*

*A mes Amis surtout Sihem*

*Aux personne que j'ai connue mais je n'ai pas pu les citer*

*Kahdidja*

# *Table des matières*



**Table des matières :**

Remerciements  
Dédicace  
Table des matières .....I  
Liste des figures .....IV  
Liste des tableaux .....VI  
Liste des abréviations .....7  
Introduction générale..... 1

**Chapitre I : Synthèse bibliographique**

I.1 Généralités sur la famille des coronavirus ..... 4  
    I.1.1 Un bref historique sur les découvertes et les recherches effectuées sur les coronavirus4  
    I.1.2 Structure des coronavirus .....5  
I.2 L'histoire du COVID-19..... 8  
I.3 SARS-COV-2 comme cible ..... 9  
    I.3.1 La structure du SRAS-CoV-2 .....9  
    I.3.2 Cycle de vie du SARS-CoV-2..... 12  
    I.3.3 Les Variantes d'intérêt du SRAS-CoV-2 : Variants of Interest (VOI)(Cascella, Rajnik et al. 2021)..... 14  
    I.3.4. Les traitements contre le SARS-CoV-2 ..... 15  
    I.3.5 Les Vaccins contre le SRAS-CoV-2 ..... 17  
I.4 Doc King moléculaire ..... 19  
    I.4.1. Screening virtuel .....20  
I.4.2. Quelques outils du docking moléculaire (l'amarrage moléculaire) .....21

**Chapitre II : Matériel et Méthodes**

II.1 Objectif .....23  
II.2 Matériel.....23  
II.3. Méthodologie de travail .....23  
    II.3.1. Choix des molécules d'origine végétale .....23



---

II.3.2. Préparation du ligand .....	24
II.3.3. Choix de la protéine .....	25
II.3.4. Docking moléculaire par PyRx .....	27
II.3.5. Docking moléculaire sur CB-DOCK .....	31
 <b>Chapitre III : Résultats et Discussion</b>	
III.1. Résultats .....	34
III.1.1. 6M0J VS $\gamma$ -terpinene .....	34
III.1.2. 6M0J VS $\gamma$ -cadinene.....	37
III.2. Discussion.....	39
Conclusion.....	41
Conclusion générale .....	43
Références bibliographiques .....	45

*Listes des figures  
et Tableaux  
et Abréviations*



**Listes des figures**

**Figure 1 :** un aperçu sur les découvertes et les recherches sur les coronavirus (Wölfel, Corman et al. 2020) ..... 5

**Figure 2 :** Représentation schématique de la structure SARS-CoV-2(Awadasseid, Wu et al. 2021)..... 6

**Figure 3 :** La protéine S du SARS-CoV et SARS-CoV-2 (les sous-unités S1 et S2) (Karamloo and König 2020) ..... 7

**Figure 4 :** Chronologie des événements clés de l'épidémie de COVID-19 (Hu, Guo et al. 2020)..... 9

**Figure 5 :** Structure de la protéine Spike (Wang, Zhao et al. 2020)..... 10

**Figure 6 :** Complexe RBD-ACE2(Wang, Zhao et al. 2020)..... 11

**Figure 7 :** Cycle de vie du SRAS-Cov-2. .... 13

**Figure 8 :** Résumé du développement du vaccin contre le SRAS-CoV-2 (Amanat and Krammer 2020)..... 17

**Figure 9 :** les approches SBVS et LBVS(Ferreira, Dos Santos et al. 2015)..... 20

**Figure 10 :** Recherche de la molécule bioactive sur PubChem ..... 24

**Figure 11 :** Téléchargement de la structure 3D format SDF ..... 25

**Figure 12 :** Structure globale du SARS-CoV-2 RBD lié à ACE2 (Lan, Ge et al. 2020)..... 26

**Figure 13 :** Téléchargement de la structure tridimensionnelle de la protéine 6M0J (Structure cristalline)..... 27

**Figure 14 :** L'espace de travail sur PyRx..... 28

**Figure 15:** La protéine 6M0J sur PyRx..... 28

**Figure 16:** la protéine en macromolécule ..... 28

**Figure 17:** Insertion du ligand (Gamma-terpinene) sur PyRx ..... 29

**Figure 18:** Réglage la minimisation d'énergie..... 29

**Figure 19:** Protéine et ligand prêts pour le docking ..... 30

**Figure 20:** la zone d'étude sur la protéine délimitée par un cube. .... 30

**Figure 21:** l'interface de CB-DOCK..... 31

**Figure 22:** CB-DOCK prêt pour le docking ..... 31

**Figure 23 :** Insertion du ligand et de la protéine sur CD-DOCK..... 32

**Figure24 :** Complexe 6M0J VS  $\gamma$ -terpinene (obtenu par PyRx)..... 34

**Figure 25:** Les résultats d'affinité et de RMSD obtenus après une analyse par PyRx ..... 35

**Figure 26:** Complexe d'interaction de la protéine 6M0J et  $\gamma$ -terpinene ..... 35

**Figure 27:** Interaction entre la protéine (6M0J-  $\gamma$ -terpinene) sur CB-dock ..... 36



---

<b>Figure 28:</b> Complexe 6M0J VS $\gamma$ -cadinene (obtenu par PyRx) .....	37
<b>Figure 29:</b> Les résultats d'affinité et de RMSD du complexe (6M0J - $\gamma$ -cadinene) obtenus après une analyse par PyRx .....	37
<b>Figure 30:</b> le complexe (6M0J- $\gamma$ -cadinene) visualisé avec.....	38
<b>Figure 31:</b> Interaction entre la protéine (6M0J- $\gamma$ -cadinene) sur CB-dock.....	38



---

**Listes des tableaux**

**Tableau I :** De résumé des plateformes de développement de vaccins contre le SRAS-CoV-2 (Amanat and Krammer 2020)..... 18

**Tableau II :** Les structures 3D des ligands et leurs codes sur PubChem ..... 25

**Tableau III:** Les résultats de docking sur CB-Dock (6M0J-  $\gamma$ -terpinene)..... 36

**Tableau IV :** Les résultats de docking sur CB-Dock (6M0J-  $\gamma$ -cadinene)..... 38



**Listes des abréviations**

<b>ACE2</b>	:	L'enzyme de conversion de l'angiotensine 2
<b>ARN</b>	:	L'acide ribonucléique
<b>Covid19</b>	« <i>Co</i> »	: Pour "corona",
	« <i>Vi</i> »	: Pour "virus"
	« <i>D</i> »	: Pour "disease" ("maladie" en anglais).
	« <i>19</i> »	: Pour l'année de son apparition : 2019.
<b>Coronavirus humain NL63</b>	:	Nom scientifique <i>Human coronavirus NL63</i> , acronyme HCoV-NL63
<b>DPP4</b>	:	Dipeptidyl peptidase 4
<b>HKU 1</b>	:	Nom scientifique <i>Human coronavirus HKU1</i> , acronym HCoV-HKU1
<b>HACE 2</b>	:	human angiotensin converting enzyme 2
<b>HDPP4</b>	:	human dipeptidyl peptidase 4
<b>HCoV</b>	:	coronavirus humains
<b>MERS - CoV</b>	:	Middle-East respiratory syndrome-related coronavirus
	« <i>MRC</i> A»	: Most recent Common ancestor
<b>OMS</b>	:	L'Organisation mondiale de la Santé
<b>RBD</b>	:	Récepteur binding domaine,
<b>RNP</b>	:	Ribonucléoprotéine virale
<b>SARS-CoV-2</b>	:	Coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère
<b>TGEV</b>	:	Transmissible gastro - enteritis virus, maintenant appelé alpha coronavirus
<b>LBVS</b>	:	Criblage virtuel basé sur le ligand
<b>SBVS</b>	:	Criblage virtuel basé sur la structure

# *Introduction générale*



## **Introduction générale**

L'Organisation mondiale de la santé (2020) a déclaré la maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) comme une pandémie, et elle affecte plus de 210 pays et territoires dans le monde (OMS). En Algérie (06 Juillet 2021), il y a eu 142.447 cas confirmés de COVID-19 et 3.775 décès au total sont survenus.

Le SRAS-CoV-2, un membre des bêta-coronavirus (Bêta-CoV) provoque un nouveau type de syndrome respiratoire aigu sévère humain pathogène transmissible, caractérisé par des symptômes de détresse respiratoire aiguë tels que fièvre 38,1-39°C, toux sèche, et essoufflement avec une période d'incubation d'environ 5 jours (moyenne de 2 à 14 jours) (**Yuen, Ye et al. 2020**). La transmission interhumaine du COVID-19 se produirait par des gouttelettes respiratoires ou par contact direct avec les patients (**Jayaweera, Perera et al. 2020**).

Les Coronavirus appartiennent à la famille des Coronaviridae. Il s'agit d'un groupe de virus génotypiquement et phénotypiquement divers, enveloppés et de sens positif porteurs d'ARN simple brin.

Pour comprendre les cibles médicamenteuses du COVID-19, le cycle de vie du SRAS-CoV-2 doit être bien compris. Le SRAS-CoV-2 se compose de quatre protéines structurelles de base : « protéine de pointe (S) », « protéine de membrane (M) », « protéine d'enveloppe (E) » et « protéine de nucléocapside (N) » à symétrie hélicoïdale. Le virus SARS-CoV-2 cible les cellules hôtes via la protéine de pointe virale (S), qui se lie au récepteur ACE2 des cellules hôtes (Fung et Liu, 2014). Après la liaison protéine S-ACE2, le virus utilise les récepteurs de la cellule hôte (TMPRSS2) et pénètre dans le cytosol de la cellule hôte (**Fung and Liu 2014**).

Les méthodes les plus efficaces pour lutter contre les infections virales (vaccins spécifiques et médicaments antiviraux) sont explorées et développées et le monde attend le traitement le plus efficace pour lutter contre le COVID-19. Des études *in-silico* récentes ont rapporté le rôle plausible de nouvelles molécules et de la réutilisation de médicaments existants dans le traitement du COVID-19 (**Arya and Dwivedi 2020**). Cependant, le développement de tels traitements efficaces peut prendre des mois ou des années et l'exploration d'options de traitement rapide est donc également cruciale. Au cours de l'épidémie de SARS-CoV de 2003, l'efficacité des traitements à base de plantes a été démontrée. Par conséquent, il est urgent de trouver le remède pour minimiser la morbidité et la mortalité dues au COVID-19, sur la base des médecines traditionnelles complémentaires, car à ce jour, il n'existe aucun traitement officiel disponible pour traiter le COVID-19.



De nombreux composés phytochimiques ont été enregistrés pour être utilisés pour traiter les maladies infectieuses causées par des bactéries, des virus et des champignons (**Mahady 2005; Ben-Shabat, Yarmolinsky et al. 2020**). Les méthodologies *in silico* ont ouvert de nouvelles voies de recherche et sont désormais largement acceptées comme un outil utile pour raccourcir les délais d'exécution, comprendre et prédire l'aptitude à la drogue au début de la découverte de médicaments.

D'où l'intérêt de notre étude qui vise à étudier *in silico* comment-ils deux composés actifs interagissent avec le **domaine de liaison au récepteur de pointe SARS-CoV-2 lié au récepteur ACE2**. Ces composés phytochimique d'origine végétale sont : **le gamma-terpinene et gamma-cadinene** identifiés dans des plantes médicinales utilisées pour le traitement des infections virales (Grippe et Covid-19).

Le docking moléculaire (l'amarrage moléculaire) a été réalisé par deux logiciels : le **PyRx** et **CD-DOCK**.

Le premier chapitre est consacré pour la synthèse bibliographique regroupant des généralités sur la famille des coronavirus, SARS-CoV-2 ainsi que des généralités sur le docking moléculaire.

Le deuxième chapitre est dédié à la présentation du matériel et des méthodes du docking moléculaire.

Le dernier chapitre illustre les résultats obtenus ainsi que leurs discussions et une conclusion qui résume l'ensemble des travaux effectués, les résultats et les perspectives.

# *Chapitre I*

## *Synthèse bibliographique*



## I.1 Généralités sur la famille des coronavirus

Les coronavirus (CoV) sont une famille très diversifiée de virus à ARN simple brin enveloppés de sens positif. Ils infectent l'homme, d'autres mammifères et espèces aviaires, y compris le bétail et les animaux de compagnie, et constituent donc non seulement un défi de santé publique mais également une préoccupation vétérinaire et économique. Dans l'ordre des Nidovirales et le sous-ordre des Coronavirineae se trouve la famille des Coronaviridae. Ce dernier est en outre spécifié dans la sous-famille des Orthocoronavirinae, qui se compose de quatre genres : alphacoronavirus, bêtacoronavirus, gammacoronavirus et deltacoronavirus. Alors que les alphacoronavirus et les bêtacoronavirus infectent exclusivement les espèces de mammifères, les gammacoronavirus et les deltacoronavirus ont une gamme d'hôtes plus large qui comprend des espèces aviaires. Les infections à coronavirus humain et animal entraînent principalement des maladies respiratoires et entériques (**Corman, Muth et al. 2018; Gorbalenya, Baker et al. 2020**).

Les coronavirus humains, tels que HCoV-229E et HCoV-OC43, sont connus depuis longtemps pour circuler dans la population et, avec les HCoV-NL63 et HCoV-HKU1 identifiés plus récemment, ils provoquent des infections des voies respiratoires saisonnières et généralement bénignes associées à des symptômes du « rhume banal ».

À l'opposé, le coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV), le coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV) et le SRAS-CoV-2, qui sont apparus dans la population humaine au cours des 20 dernières années, sont hautement pathogènes. En infectant les cellules épithéliales bronchiques, les pneumocytes et les cellules des voies respiratoires supérieures chez l'homme, les infections par le SRAS-CoV, le MERS-CoV et le SARS-CoV-2 peuvent évoluer en pathologies respiratoires graves et potentiellement mortelles et en lésions pulmonaires pour lesquelles aucun traitement prophylactique ou thérapeutique spécifique n'a été approuvé à ce jour (**V'kovski, Kratzel et al. 2021**).

### I.1.1 Un bref historique sur les découvertes et les recherches effectuées sur les coronavirus

En 1931, le virus de la bronchite infectieuse aviaire (IBV) a été le premier coronavirus à être découvert (Schalk 1931). Plus tard, en 1966 et 1967, les premiers coronavirus humains, HCoV-229E et HCoV-OC43, ont été découverts (**Hamre and Procknow 1966; McIntosh, Dees et al. 1967**). La période suivante a été essentielle dans la découverte de jalons de la recherche qui ont largement contribué à la connaissance des coronavirus : traitement des polyprotéines (1986)(**Denison and Perlman 1986**), première séquence complète du génome du coronavirus



(1987)(Bournsnel, Brown et al. 1987), premiers coronavirus recombinants conçus par recombinaison ciblée (1992)(Koetzner, Parker et al. 1992), discontinu transcription (1995)(Sawicki and Sawicki 1995), clones génétiques inversés de pleine longueur (2000, 2001)(Thiel, Herold et al. 2001) et microscopie électronique de vésicules à double membrane (2002)(Gosert, Kanjanahaluethai et al. 2002).

En (2002-2003), il y'avait l'émergence zoonotique du coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV) (Zhong, Zheng et al. 2003). Comme la transmission interhumaine s'est principalement produite après l'apparition des symptômes, des mesures de santé publique drastiques, y compris des restrictions de voyage et l'isolement des patients infectés, ont réussi à contenir la propagation internationale à des foyers limités d'infections.

En 2012, l'émergence d'un deuxième coronavirus hautement pathogène d'origine zoonotique, le MERS-CoV, il a entraîné plus de 2 500 cas humains. il provient également des chauves-souris et a établi un réservoir animal chez les dromadaires (Memish, Mishra et al. 2013).

Récemment, le SRAS-CoV-2 pathogène s'est rapidement propagé dans la population humaine après un probable débordement des chauves-souris ou d'un hôte intermédiaire non encore identifié(Zhou, Yang et al. 2020). Le SRAS-CoV-2 cible à la fois les tissus des voies respiratoires supérieures et inférieures et une transmission interhumaine efficace se produit avant même l'apparition des symptômes(Wölfel, Corman et al. 2020).

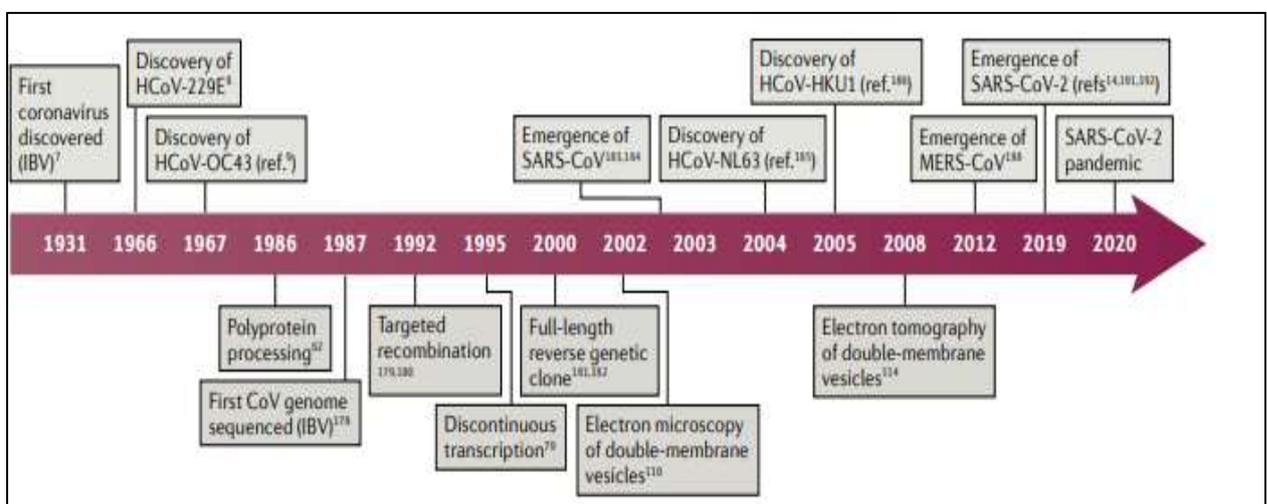


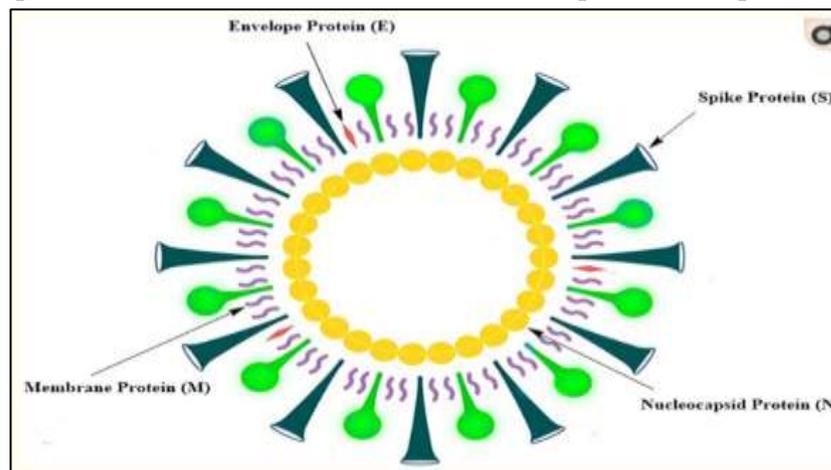
Figure 1 : un aperçu sur les découvertes et les recherches sur les coronavirus (Wölfel, Corman et al. 2020)

### I.1.2 Structure des coronavirus



La famille des Coronaviridae est un groupe monophylétique de l'ordre des Nidovirales dont les membres sont enveloppés d'un génome à ARN simple brin de sens positif et mesure, en moyenne, 30 kilobases. La sous-famille des Orthocoronavirinae contient 4 genres (Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gamma coronavirus et Deltacoronavirus), et SARS-CoV et SARS-CoV-2 appartiennent au genre betacoronavirus (**Perlman and Netland 2009; Schoeman and Fielding 2019**).

Le coronavirus (CoV) possède un génome à ARN simple brin non segmenté de polarité positive, et son virion contient 4 protéines structurales majeures : *la protéine de nucléocapside (N)*, *la protéine transmembranaire (M)*, *la protéine d'enveloppe (E)* et *la protéine de pointe (S)* (**Figure 02**). Cependant, avec certains coronavirus, l'ensemble complet des protéines structurales n'est pas nécessaire à la formation d'un virion infectieux complet ; des protéines supplémentaires peuvent être codées avec des fonctions compensatoires qui se chevauchent.



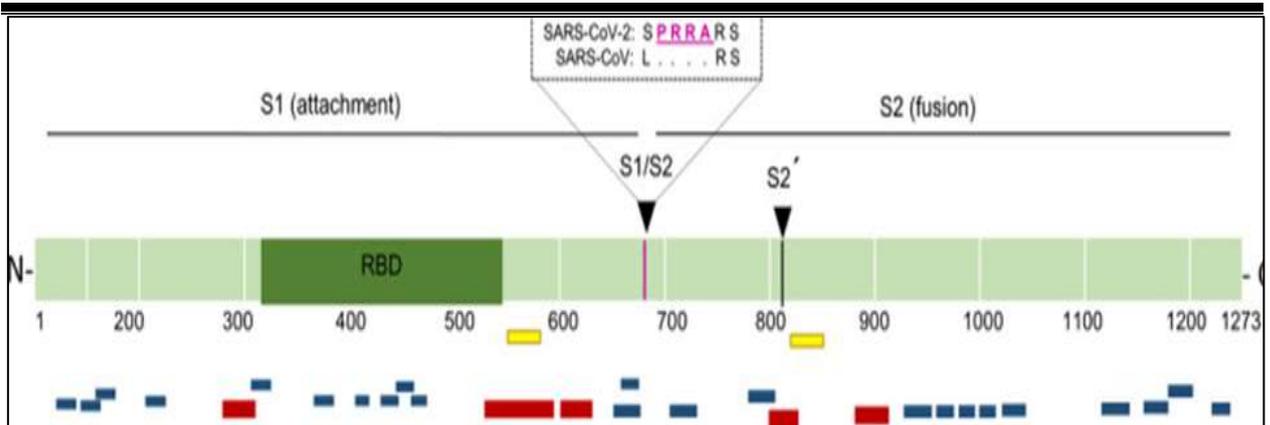
**Figure 2 : Représentation schématique de la structure SARS-CoV-2(Awadasseid, Wu et al. 2021)**

### a. La protéine S

Les modifications de la glycoprotéine S sont en grande partie responsables de la variété de l'hôte des coronavirus et de la variété du tropisme tissulaire (**Chen, Liu et al. 2020**).

La protéine S est l'une des quatre principales protéines structurales du virus. C'est une protéine transmembranaire responsable de la liaison de l'enveloppe virale aux récepteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) exprimés à la surface des cellules hôtes, ce qui conduit à l'entrée du virus et à la pathogenèse.

La protéine S se compose de deux sous-unités (S1 et S2). La sous-unité S1 porte le domaine de liaison au récepteur (RBD) qui interagit directement avec le récepteur ACE2, tandis que la sous-unité S2 assure la médiation de la fusion membranaire de la cellule virus-hôte en contenant les éléments essentiels nécessaires à ce processus(Hasoksuz, Lathrop et al. 1999)(**Figure 03**).



**Figure 3 : La protéine S du SARS-CoV et SARS-CoV-2 (les sous-unités S1 et S2) (Karamloo and König 2020)**

### b. La protéine N

Est la seule protéine qui forme la nucléocapside et fonctionne principalement pour se lier au génome de l'ARN du coronavirus. Alors que la protéine N est impliquée dans les processus liés au génome viral, elle joue un rôle dans la réplication de l'ARN viral et la réponse cellulaire de l'hôte à l'infection virale. La localisation du réticulum endoplasmique de la protéine N a une fonction pour cela dans l'assemblage et le bourgeonnement. De plus, dans certains coronavirus, il a été démontré que l'expression de la protéine N augmente considérablement la production de particules pseudo-virales (Chen, Liu et al. 2020).

### c. La protéine M

Dans l'assemblage du virus, la protéine M du coronavirus joue un rôle central car elle transforme les membranes cellulaires en usines où virus et facteurs hôtes se rejoignent pour former de nouvelles particules virales. Les protéines M du SARS-CoV, SARS-CoV-2, MERS-CoV, MHV, FCoV, IBV, TGEV et BCoV sont ciblées à proximité de l'appareil de Golgi. Des études de génétique inverse et des études d'assemblage de protéines de type virus (VLP) suggèrent que la protéine M encourage l'assemblage en interagissant avec la ribonucléoprotéine virale (RNP) et les glycoprotéines S sur le site de bourgeonnement et en créant un réseau d'interactions M-M capables d'exclure certaines membranes de l'hôte protéines de l'enveloppe virale (Neuman, Kiss et al. 2011).

### d. La protéine E

La plus petite mais aussi la plus mystérieuse des protéines structurales majeures est la protéine E. Alors que la protéine E est abondamment exprimée à l'intérieur de la cellule infectée pendant le cycle de réplication, seule une petite partie est incorporée dans l'enveloppe du virion (Schoeman and Fielding 2019). La majeure partie de la protéine est localisée dans le compartiment intermédiaire ER, Golgi et ER-Golgi, site du trafic intracellulaire, où elle participe



à l'assemblage et au bourgeonnement du CoV. Selon des études publiées, 3 rôles ont été proposés pour la protéine CoV E : a) l'interaction entre les queues cytoplasmiques des protéines M et E qui suggère que E participe à l'assemblage viral ; b) son domaine transmembranaire hydrophobe est essentiel à la libération des virions ; et c) il est impliqué dans la pathogenèse du virus (Satija and Lal 2007; Schoeman and Fielding 2019).

## I.2 L'histoire du COVID-19

Un homme de 41 ans a été admis à l'hôpital central de Wuhan le 26 décembre 2019, 6 jours après le début de la maladie. Il n'avait pas d'antécédents d'hépatite, de tuberculose ou de diabète et a signalé de la fièvre, une oppression thoracique, une toux improductive, des douleurs et une faiblesse pendant 1 semaine lors de la présentation.

Le Centre de contrôle et de prévention des maladies de Wuhan a mené une enquête épidémiologique et a découvert que le patient travaillait dans un marché local de fruits de mer intérieur où, en plus du poisson et des crustacés, une variété d'animaux sauvages vivants (y compris des hérissons, des blaireaux, des serpents et des oiseaux) étaient disponibles à la vente ainsi que des carcasses d'animaux. Cependant, aucune chauve-souris n'était disponible à la vente et le patient ne se rappelait aucune exposition à des volailles vivantes bien qu'il ait pu entrer en contact avec des animaux sauvages (Hu, Guo et al. 2020).

Le 31 décembre 2019, le bureau de pays de l'OMS en Chine a été informé que des cas de pneumonie d'étiologie inconnue avaient été détectés dans la ville de Wuhan, dans la province chinoise du Hubei. Du 31 décembre 2019 au 3 janvier 2020, un total de 44 patients atteints d'une pneumonie d'étiologie inconnue a été signalé à l'OMS par les autorités nationales chinoises. Aucun agent causal n'a été identifié au cours de cette période de rapport. Puis, les 11 et 12 janvier 2020, l'OMS a reçu de plus amples informations de la Commission nationale de la santé en Chine selon lesquelles l'épidémie avait été associée à l'un des marchés de fruits de mer de la ville de Wuhan. Le 7 janvier 2020, les Chinois ont isolé et identifié un nouveau type de coronavirus afin que d'autres pays puissent développer des kits de diagnostic spécifiques. Le 12 janvier 2020, la Chine a partagé la séquence génétique du nouveau coronavirus. Le 13 janvier 2020, le ministère de la Santé publique de Thaïlande a signalé le premier cas importé de nouveau coronavirus (2019-nCoV) confirmé en laboratoire de Wuhan, dans la province du Hubei, en Chine. Le 15 janvier 2020, le ministère de la Santé, du travail et du Bien-être du Japon (MHLW) a signalé un cas importé de nouveau coronavirus 2019 confirmé en laboratoire (2019-nCoV) provenant du même emplacement source. Le 20 janvier 2020, le point focal national RSI (PFN) de la République de Corée a signalé le premier cas de nouveau coronavirus, également à Wuhan,



en Chine. Les premiers cas de COVID-19 ont été observés en Turquie le 10 mars 2020 et il s'agissait de 47 029 cas et de 1006 décès après 1 mois. Les infections au SRAS-CoV-2 sont désormais généralisées et, au 10 avril 2020, 1 727 602 cas ont été confirmés dans plus de 210 pays, avec 105 728 décès (Hu, Guo et al. 2020)(Figure 04).



**Figure 4 : Chronologie des événements clés de l'épidémie de COVID-19 (Hu, Guo et al. 2020).**

### I.3 SARS-COV-2 comme cible

Le SRAS-CoV-2 est un virus à ARN simple brin qui appartient au genre Betacoronavirus (betaCoVs). Il a un diamètre d'environ 60 à 140 nm et un génome de 29 891 nucléotides qui code pour 9 860 acides aminés. Des études ont montré que le SARS-CoV-2 partage environ 80% de son identité de séquence avec le SARS-CoV(Chan, Kok et al. 2020).

Le génome du virus code pour environ 16 protéines non structurales (NSP) et 4 protéines structurales majeures. Les protéines structurales comprennent la protéine de pointe (S), la protéine d'enveloppe (E), la protéine membranaire (M) et la protéine de nucléocapside (N)(Chan, Kok et al. 2020).

#### I.3.1 La structure du SRAS-CoV-2

Voici quelques protéines du SRAS-CoV-2 qui peuvent potentiellement servir de cibles de médicaments antiviraux en fonction de leurs structures.

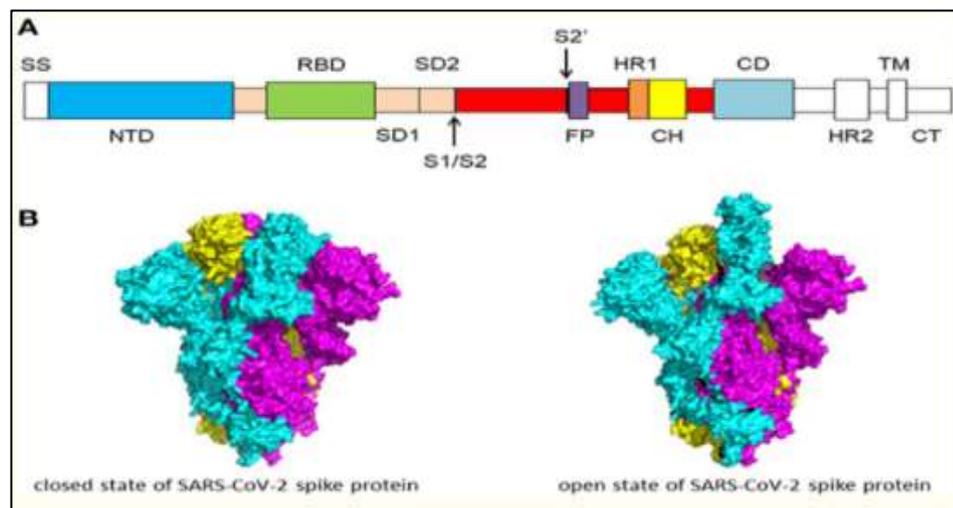
##### a. Glycoprotéine de pointe

L'entrée des coronavirus dans les cellules hôtes est médiée par la glycoprotéine de pointe (protéine S) (Li et al. 2003 ; Li et al., 2005; Li, 2016). Les glycoprotéines de pointe transmembranaires forment des homotrimères qui dépassent de la surface virale. La glycoprotéine de pointe est essentielle pour l'entrée des coronavirus, c'est donc une cible



antivirale attrayante. La protéine S est composée de deux sous-unités fonctionnelles, dont les sous-unités S1 et S2. La sous-unité S1 est constituée d'un domaine N-terminal (NTD) et d'un domaine de liaison au récepteur (RBD).

La fonction de la sous-unité S1 est de se lier au récepteur sur la cellule hôte. La sous-unité S2 contient le peptide de fusion (FP), la répétition heptade 1 (HR1), l'hélice centrale (CH), le domaine connecteur (CD), la répétition heptade 2 (HR2), le domaine transmembranaire (TM) et la queue cytoplasmique (CT) (**Figure 05**). La fonction de la sous-unité S2 est de fusionner les membranes des virus et des cellules hôtes. Le site de clivage à la frontière entre les sous-unités S1 et S2 est appelé site de clivage de la protéase S1/S2. Pour tous les coronavirus, les protéases de l'hôte clivent la glycoprotéine de pointe au site de clivage S2 pour activer les protéines qui sont essentielles pour fusionner les membranes des virus et des cellules hôtes par des changements conformationnels irréversibles.



**Figure 5 : Structure de la protéine Spike (Wang, Zhao et al. 2020)**

(A) Schéma de la structure primaire de la protéine de pointe SARS-CoV-2.

(B) Structure cryo-EM de la protéine de pointe SARS-CoV-2. L'état fermé (PDB : 6VXX) de la glycoprotéine SARS-CoV-2 S (à gauche) l'état ouvert (PDB : 6VYB) de la glycoprotéine SARS-CoV-2 S (à droite).

### b. HR1 et HR2

Le faisceau à six hélices (6-HB) est formé par HR1 et HR2 et est essentiel pour la fusion membranaire qui est dominée par la protéine de pointe du SARS-CoV ou SARS-CoV-2, faisant de HR1 et HR2 une cible médicamenteuse attrayante (**Xia, Zhu et al. 2020**). La différence entre le 6-HB du SARS-CoV-2 et le SARS-CoV peut stabiliser la conformation 6-HB du SARS-CoV-



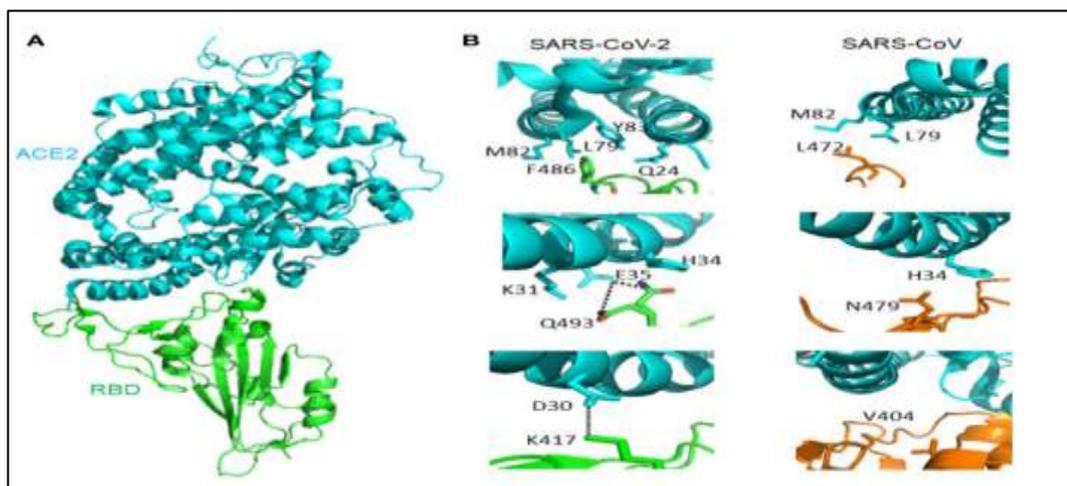
2 et améliorer les interactions entre HR1 et HR2, entraînant une augmentation de l'infectiosité du SARS-CoV-2 (Xia, Liu et al. 2020).

**c. La protéine RBD de Spike (Le domaine de liaison au récepteur (RBD)) :**

La reconnaissance des récepteurs par le SRAS-CoV a été largement étudiée. Une protéine de pointe de surface du virus facilite l'entrée du coronavirus dans les cellules hôtes. La protéine de pointe du SRAS-CoV contient un domaine de liaison au récepteur (RBD).

La protéine de pointe du SARS-CoV-2 contient un RBD qui reconnaît spécifiquement le récepteur ACE2. Le RBD est une cible critique pour les composés antiviraux et les anticorps (Letko, Marzi et al. 2020). Le SARS-CoV-2 RBD comprend deux domaines structuraux : le noyau et les sous-domaines externes. Le sous-domaine central est hautement conservé.

- **Complexe RBD-ACE2 :** Il est important de comprendre le mécanisme de Reconnaissance des récepteurs du SRAS-CoV-2, qui détermine l'infectivité, la gamme d'hôtes et la pathogenèse du virus. Le SARS-CoV-2 et le SARS-CoV reconnaissent tous deux l'ACE2 chez l'homme (Li, Moore et al. 2003; Sia, Yan et al. 2020). La structure cristalline du SARS-CoV-2 RBD lié à l'ACE2 a été déterminée (figure 05). Le mode de combinaison global du complexe SARS-CoV-2 RBD-ACE2 est très similaire à celui du complexe SARS-CoV RBD-ACE2 identifié dans une étude précédente. Dix-sept des 20 résidus de l'ACE2 interagissant avec le RBD du SARS-CoV et du SARS-CoV-2 sont les mêmes.



**Figure 6 : Complexe RBD-ACE2(Wang, Zhao et al. 2020)**

- (A) La structure globale du SARS-CoV-2 RBD lié à ACE2. ACE2 est de couleur cyan, le noyau SARS-CoV-2 RBD est de couleur verte (PDB : 6M0J).
- (B) Différentes interactions entre le SARS-CoV-2 RBD/ACE2 (PDB : 6M0J) et le SARS-CoV RBD/ACE2 (PDB : 2AJF) qui contribuent à la différence d'affinité de liaison. ACE2 est de couleur cyan. Le RBD du SARS-CoV-2 est vert et le RBD du SARS-CoV est orange. La



liaison hydrogène entre Q493 et E35 est représentée par des tirets. Le pont salé entre ACE2 D30 et SARS-CoV-2 K417 est représenté par des tirets.

#### **d. La protéase principale (The Main Protease)**

La protéase principale (Mpro) du SARS-CoV-2 joue un rôle central dans la médiation de la réplication et de la transcription du gène viral. Mpro hydrolyse la polyprotéine sur au moins onze sites conservés et commence par le clivage des pp1a et pp1b de Mpro. Compte tenu de l'absence d'homologues étroitement apparentés chez l'homme, ainsi que de l'importance fonctionnelle de la protéase principale dans le cycle de vie du virus, la protéase principale est une cible antivirale intéressante. La symétrie cristallographique montre que Mpro forme un homodimère (protomère A et protomère B). Chaque protomère contient trois sous-domaines, à savoir le domaine I, le domaine II et le domaine III. Une longue boucle relie le domaine II et le domaine III. La fente entre le domaine I et le domaine II se trouve la poche de liaison au substrat, qui présente les résidus de dyade catalytique **His41 et Cys145 (Sun, Lu et al. 2020)**.

#### **e. L'ARN polymérase dépendante de l'ARN (RdRp)**

La réplication du SARS-CoV-2 est dominée par un complexe de réplication/transcription qui contient plusieurs sous-unités. Le complexe est composé de protéines virales non structurales (nsp) et le noyau du complexe est le RdRp dans nsp12.

L'ARN polymérase dépendante de l'ARN, qui catalyse la synthèse de l'ARN viral, est une composition critique de la réplication/transcription du coronavirus. RdRp est une cible importante des médicaments antiviraux (**Gao, Yan et al. 2020**).

### **I.3.2 Cycle de vie du SARS-CoV-2**

Le SARS-CoV-2, comme son antécédent SARS-CoV, se propage par les gouttelettes respiratoires et par la transmission de fomites (**Van Doremalen, Bushmaker et al. 2020**).

Après exposition, les protéines virales S se lient aux récepteurs ACE2 qui sont largement exprimés dans une variété de cellules, y compris les épithéliums respiratoires et les monocytes alvéolaires et les macrophages ainsi que les tissus du tractus myocardique, rénal, hépatique et gastro-intestinal (**Chu, Chan et al. 2020**).

Le SARS-CoV-2 peut également utiliser CD209L et CD147 comme récepteurs alternatifs comme le SARS-CoV, bien qu'avec une affinité beaucoup plus faible (**Walls, Park et al. 2020**). L'utilisation de ces récepteurs alternatifs peut expliquer en partie pourquoi le taux de transmission du SRAS-CoV-2 est si élevé car ils permettront une infectivité puissante même sur des cellules exprimant une faible ACE2. Ce mécanisme d'entrée dépend des protéases cellulaires,

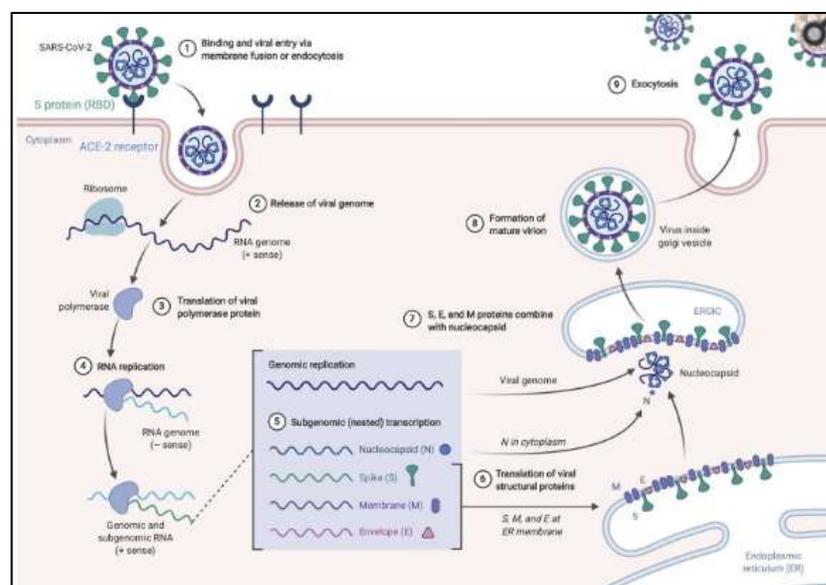


y compris la protéase de type trypsine des voies respiratoires humaines (HAT) (**Bertram, Glowacka et al. 2011**), la protéase transmembranaire sérine 2 (TMPRSS2), et les cathepsines. Ces protéases fonctionnent pour diviser la protéine de pointe pour une pénétration plus poussée.

Suite à la fusion de l'enveloppe virale à la membrane hôte, l'ARN viral est libéré dans le cytoplasme. Le cadre de lecture ouvert 1a (ORF1a) et ORF1b sont ensuite traduits en polyprotéines chevauchantes, pp1a et pp1ab qui sont clivées par les protéases virales de type papaïne et une sérine de type Mpro (protéases de type chymotrypsine) qui sont codées par ORF1a pour produire 16 non -protéines structurales qui forment le complexe ARN réplicase-transcriptase (RTC).

La synthèse d'ARN viral produit à la fois des ARN génomiques et sous-génomiques, ces derniers servant d'ARNm pour 7 à 9 protéines structurales telles que les protéines E, N, M et S qui sont produites par transcription discontinue (**Siu, Teoh et al. 2008**).

Les ARN génomiques et sous-génomiques sont produits par des intermédiaires de sens négatif (-ARN) via l'ARN polymérase dépendante de l'ARN (RdRp) (**Fehr and Perlman 2015**). Les nucléocapsides virales sont ensuite assemblées avec de l'ARN génomique encapsidé par la protéine N dans le cytoplasme. Les bourgeons de la nucléocapside virale assemblés dans la lumière du compartiment intermédiaire du réticulum endoplasmique-Golgi (ERGIC) et le virion mature terminé sont libérés de la cellule infectée par exocytose (**Wu, Zhao et al. 2020**). La représentation du cycle de vie est illustrée à la **figure 07**.



**Figure 7 : Cycle de vie du SRAS-Cov-2.**

Le virus pénètre et se réplique dans les cellules qui expriment l'ACE2 telles que l'épithélium pulmonaire, les cellules myocardiques, rénales, du tractus gastro-intestinal et



hépatiques. Les virions matures sont libérés des cellules hôtes primaires par exocytose et infectent de nouvelles cellules cibles (**Figure de Biorender.com.**)

### **I.3.3 Les Variantes d'intérêt du SRAS-CoV-2 : Variants of Interest (VOI)(Casella, Rajnik et al. 2021)**

Les (VOI) sont définis comme des variantes avec des marqueurs génétiques spécifiques qui ont été associés à des changements pouvant entraîner une transmission ou une virulence accrue, une réduction de la neutralisation par des anticorps obtenus par infection naturelle ou vaccination, la capacité d'échapper à la détection, ou une diminution de l'efficacité des traitements ou vaccination.

**a. Les variantes du SRAS-CoV-2 B.1.427 et B.1.429**, également appelées **CAL.20C/L452R**, sont apparues aux États-Unis vers juin 2020 et sont passées de 0 % à > 50 % des cas séquencés du 1er septembre 2020 au 29 janvier 2021. Ces variants hébergent des mutations spécifiques (**B.1.427 : L452R, D614G ; B.1.429 : S13I, W152C, L452R, D614G**). En raison de sa transmissibilité accrue, le CDC a classé cette souche comme une variante préoccupante aux États-Unis (**Zhang, Davis et al. 2021**).

**b. SARS-CoV-2 B.1.525 et B.1.526** mutations des pointes clés du port (B.1.525 : A67V, Δ69/70, Δ144, E484K, D614G, Q677H, F888L ; B.1.526 : (L5F\*), T95I, D253G, (S477N\*), (E484K\*), D614G, (A701V\*)) et ont été détectés pour la première fois à New York en novembre 2020 et classés comme variant d'intérêt par les CDC et l'OMS en raison de leur réduction potentielle de la neutralisation par les traitements par anticorps et sérums vaccinaux.

**c. Le SRAS-CoV-2 B.1.1.28.2/P2** présente des mutations de pointe clés (L18F ; T20N ; P26S ; F157L ; E484K ; D614G ; S929I ; et V1176F) et a été détecté pour la première fois au Brésil en avril 2020 et a été classée comme une variante de intérêt des CDC en raison de sa réduction potentielle de la neutralisation par les traitements par anticorps et les sérums vaccinaux.

**d. La variante SARS-CoV-2 B.1.1.28.3/P3**, également appelée PHL-B.1.1.28, présente des mutations de pointe clés (délétion 141-143 E484K ; N501Y ; et P681H) et a été détectée pour la première fois aux Philippines et au Japon en février 2021 et est classé comme variante d'intérêt par l'OMS.

**e. Le variant SARS-CoV-2 B.1.616** héberge des mutations clés (délétion G142 ; D66H ; Y144V ; D215G ; V483A ; D614G ; H655Y ; G669S ; Q949R ; et N1187D) et a été détecté pour la première fois en France en janvier 2021 et est classé comme variant d'intérêt par l'OMS.



### I.3.4. Les traitements contre le SARS-CoV-2

Les stratégies contre les coronavirus comprennent le blocage de l'entrée virale, l'inhibition d'une enzyme viralement codée, le blocage de la formation de particules virales ou le ciblage d'un facteur hôte nécessaire à la réplication. Bien qu'en principe toutes les protéines du SRAS-CoV-2 puissent agir en tant que cibles médicamenteuses potentielles, certaines d'entre elles sont plus susceptibles d'être ciblées dans les efforts de développement de médicaments que d'autres (**Papageorgiou and Mohsin 2020**). Actuellement, certains composés à petites molécules ont été développés ont montré des effets inhibiteurs sur l'infection par le SRAS-CoV-2.

#### a. Le Remdesivir

Est un analogue de l'adénosine et un puissant inhibiteur de RdRp. Le remdesivir pourrait inhiber puissamment la réplication du SRAS-CoV-2 in vitro. Il montre des effets antiviraux à large spectre contre l'infection par le virus à ARN dans des cellules en culture, des modèles de primates non humains et des souris. En tant qu'analogue de l'adénosine, le remdesivir fonctionne après l'entrée du virus, en l'incorporant à l'ARN viral naissant pour mettre fin à la réplication avant que l'ARN ne devienne mature (**Gurwitz 2020**). Le remdesivir est une sorte de promédicament. Dans les cellules cibles, il se transformerait en forme triphosphate (RTP) et deviendrait actif (**Siegel, Hui et al. 2017**). Comme d'autres promédicaments analogues de nucléotides, le remdesivir inhibe l'activité RdRp en se liant de manière covalente au brin d'amorce pour terminer la chaîne d'ARN.

Semblable au remdesivir, **le favipiravir** est également un inhibiteur de la RdRp. La structure du favipiravir ressemble à la guanine endogène. Un essai clinique a démontré que le favipiravir avait peu d'effets secondaires en tant que premier composé anti-SRAS-CoV-2 mené en Chine (**Tu, Chien et al. 2020**).

#### b. Le N3

**Le N3** est un puissant inhibiteur irréversible de la protéine principale. Il a été identifié par la conception du médicament assistée par ordinateur, il pourrait s'adapter à l'intérieur de la poche de liaison au substrat de la protéine principale (**Sun, Lu et al. 2020**).

#### c. Le 11a et le 11b

Deux composés, à savoir 11a et 11b qui ciblent le Mpro, ils présentent d'excellents effets inhibiteurs sur l'infection par le SRAS-CoV-2 in vitro. L'activité inhibitrice de 11a et 11b à 1  $\mu\text{M}$  est de 100 et 96%. In vivo, les 11a et 11b présentent de bonnes propriétés pharmacocinétiques (PK). Il est à noter que 11a a également montré une faible toxicité. Le groupe -CHO de 11a et



11b se lie à la cystéine 145 de Mpro de manière covalente. Différentes parties de 11a (désignées comme P1', P1, P2 et P3) s'intègrent dans différentes parties du site de liaison au substrat. Le complexe SARS-CoV-2 Mpro-11b est similaire au complexe SARS-CoV-2 Mpro-11a et les 11a et 11b présentent un mode de liaison d'inhibiteur similaire (**Zang, Castro et al. 2020**).

#### d. Le Carmofur

Le carmofur, un médicament antinéoplasique, peut inhiber la principale protéase (Mpro) du SRAS-CoV-2. La structure cristalline du complexe carmofur-protéase principale a été résolue. Il inhibe l'activité de la protéine principale du SRAS-CoV-2 in vitro et la concentration inhibitrice demi-maximum (CI50) est de 1,82 M. Le carmofur est un agent antinéoplasique approuvé utilisé pour le cancer colorectal. C'est un dérivé du 5-fluorouracil (5-FU). Les détails moléculaires de la façon dont le carmofur inhibe l'activité de la protéine principale du SRAS-CoV-2 n'ont pas été résolus. Une étude a montré la structure cristalline du complexe SARS-CoV-2 Mpro-carmofur. La figure de la densité électronique indique que la fraction acide gras (C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>NO) du carmofur se lie de manière covalente avec l'atome S<sub>γ</sub> du résidu catalytique de la protéine principale du SRAS-CoV-2 Cys145(**Jin, Zhao et al. 2020**).

#### e. Lipopeptide EK1C4

Le complexe (6-HB) formé par les HR1 et HR2 de la protéine SARS-CoV-2 S pourrait faciliter l'infection des virus (Xia, Zhu et al. 2020). EK1 est un type d'inhibiteur de fusion de coronavirus et a un effet inhibiteur sur divers coronavirus. Il cible le HR1 de la protéine S du coronavirus humain et il a été prouvé qu'il inhibe efficacement l'infection de cinq HCoV, dont le SRAS-CoV et le MERS-CoV. Une étude récente montre que le peptide EK1 pourrait également inhiber la fusion membranaire médiée par la protéine de pointe SARS-CoV-2 ainsi que l'infection par le pseudovirus SARS-CoV-2 de manière dose-dépendante (Xia, Liu et al. 2020; Xia, Zhu et al. 2020).

#### f. Mésylate de Camostat

TMPRSS2 et TMPRSS4 sont deux protéases à sérine spécifiques de la muqueuse qui facilitent l'activité fusogène de la protéine de pointe du SRAS-CoV-2 et facilitent l'entrée du virus dans les cellules hôtes (**Zang, Castro et al. 2020**). Le SARS-CoV-2 utilise le TMPRSS2 dans les cellules pour amorcer la protéine de pointe. L'activité TMPRSS2 est essentielle pour la propagation du SRAS-CoV-2 ainsi que la pathogenèse chez l'hôte infecté. Par conséquent, TMPRSS2 est une cible antivirale potentielle. Le spectre des lignées cellulaires médiées par l'entrée de la protéine S du SARS-CoV-2 et du SARS-CoV est similaire. Le mésylate de camostat, un inhibiteur clinique de TMPRSS2, peut bloquer partiellement l'entrée dans les



cellules pulmonaires provoquée par le SRAS-CoV-2. En conclusion, le mésylate de camostat a le potentiel de traiter et de prévenir le COVID-19 (Hoffmann, Kleine-Weber et al. 2020).

### I.3.5 Les Vaccins contre le SRAS-CoV-2

Il est urgent de développer des vaccins efficaces et sûrs pour contrôler la nouvelle apparition de COVID-19 et réduire la morbidité et la mortalité liées à l'infection par le SRAS-CoV-2 (Amanat et Krammer, 2020). La Commission chinoise de la santé a annoncé que plus de cinq types de vaccins sont actuellement développés pour COVID-19 en Chine, y compris le vaccin protéique sous-unitaire, le vaccin à acide nucléique, le vaccin inactivé, le vaccin à vecteur adénoviral et le vaccin à vecteur viral de la grippe (Sun, Zhu et al. 2020) (Figure 08). Au 17 octobre 2020, il y avait 177 candidats vaccins contre le COVID-19 et 54 étaient en cours d'essais humains dans le monde.

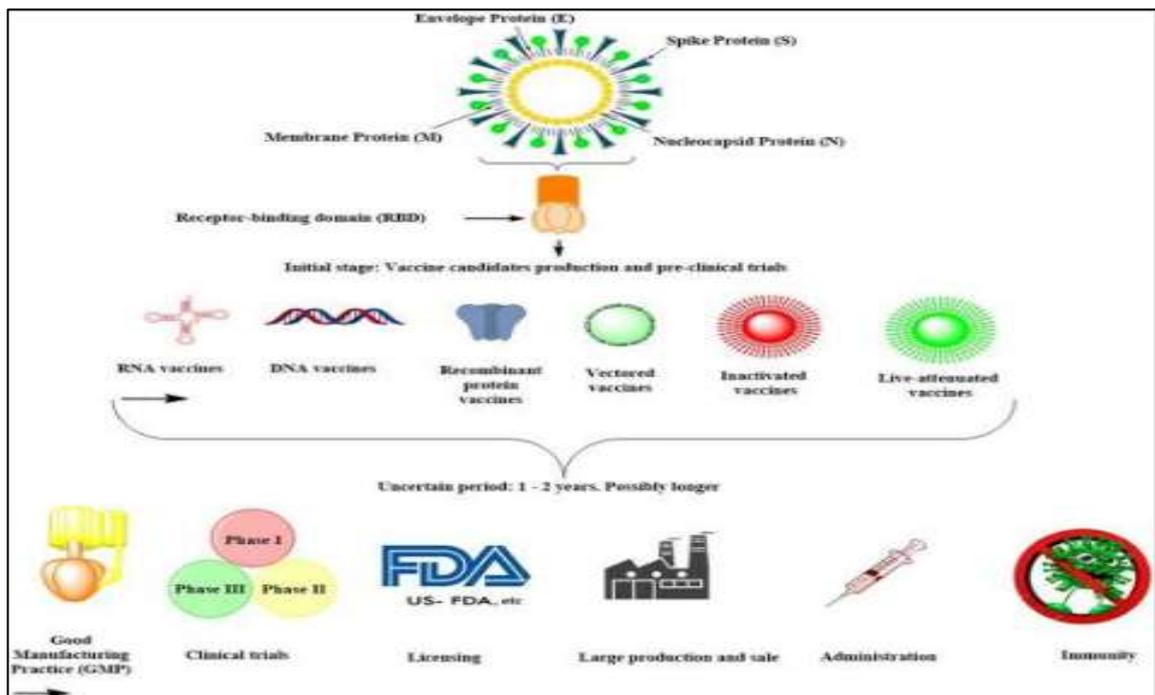


Figure 8 : Résumé du développement du vaccin contre le SRAS-CoV-2 (Amanat and Krammer 2020)

Le tableau I résume les différents types du vaccin contre le SARS-CoV-2 qui sont en cours du développement avec leurs avantages et inconvénients.



**Tableau I : De résumé des plateformes de développement de vaccins contre le SRAS-CoV-2 (Amanat and Krammer 2020)**

plateformes	Avantages	Inconvénients
Vaccins inactivés	Une procédure simple utilisée par de nombreux vaccins humains approuvés, les installations actuelles peuvent être utilisées, les adjuvants du SRAS-CoV ont été évalués chez l'homme et peuvent être utilisés pour améliorer l'immunogénicité.	De grandes quantités de virus contagieux doivent être traitées. L'intégrité des antigènes et/ou des épitopes doit être vérifiée.
Vaccins vivants atténués	La technologie existante peut être utilisée avec des procédures simples requises par de nombreux vaccins médicaux approuvés	En raison de la taille complète de son génome, il faut du temps pour construire des clones infectieux pour les semences de vaccins contre les coronavirus atténués. Il faudrait un contrôle minutieux de la sécurité.
Vaccin basé sur un vecteur viral	Il n'est pas nécessaire de diagnostiquer un virus contagieux, des preuves précliniques et cliniques exceptionnelles pour d'autres nouvelles infections, telles que le MERS-CoV.	L'immunité vectorielle peut avoir un impact négatif sur l'efficacité du vaccin (basée principalement sur le vecteur sélectionné).
Vaccins à sous-unités (protéines recombinantes)	Il n'est pas nécessaire de traiter un virus infectieux ; des adjuvants peuvent être utilisés pour augmenter l'immunogénicité.	La capacité de produire des protéines recombinantes pour une utilisation mondiale pourrait être limitée. L'intégrité des antigènes et/ou des épitopes doit être testée. Les rendements doivent être suffisamment élevés.
Vaccins à ADN	Il n'est pas nécessaire de gérer le virus contagieux, une expansion rapide, un faible coût de traitement, une stabilité thermique élevée, des tests SARS-CoV chez l'homme, un développement rapide est réalisable.	Pour atteindre une forte immunogénicité, le vaccin nécessite différents systèmes de distribution.



Vaccins à ARN	Il n'est pas nécessaire de traiter un virus contagieux ; les vaccinations sont généralement immunogènes et leur développement est probablement rapide.	Des problèmes de sécurité liés à la réactogénicité ont été identifiés.
---------------	--	--

De nombreux vaccins, tels que les vaccins à sous-unités à base de protéines recombinantes, les vaccins à vecteur viral, les vaccins à ADN, les vaccins vivants atténués et les vaccins à virus inactivés, sont maintenant au stade préclinique. Étant donné que toutes ces stratégies présentent à la fois des avantages et des inconvénients, il est difficile de définir quelle approche serait la plus rapide ou la plus efficace (**Tableau I**).

#### I.4 Doc King moléculaire

Les reconnaissances moléculaires, notamment les interactions enzyme-substrat, médicament-protéine, médicament-acide nucléique, protéine-acide nucléique et protéine-protéine, jouent un rôle important dans de nombreux processus biologiques tels que la transduction du signal, la régulation cellulaire et d'autres assemblages macromoléculaires. Par conséquent, la détermination du mode de liaison et de l'affinité entre les molécules constitutives de la reconnaissance moléculaire est cruciale pour comprendre les mécanismes d'interaction et concevoir des interventions thérapeutiques. En raison des difficultés et du coût économique des méthodes expérimentales pour déterminer les structures des complexes, des méthodes de calcul telles que l'amarrage moléculaire sont souhaitées pour prédire les modes de liaison et les affinités putatives (**Kuntz, Blaney et al. 1982**).

L'amarrage moléculaire (docking moléculaire) est une méthode établie *in silico* basée sur la structure, largement utilisée dans la découverte de médicaments. L'amarrage permet d'identifier de nouveaux composés d'intérêt thérapeutique, de prédire les interactions ligand-cible au niveau moléculaire, ou de délimiter des relations structure-activité (SAR), sans connaître a priori la structure chimique des autres modulateurs cibles (**Pinzi and Rastelli 2019**).

Suite au développement des premiers algorithmes dans les années 1980, l'amarrage moléculaire est devenu un outil essentiel dans la découverte de médicaments (**López-Vallejo, Caulfield et al. 2011**). Par exemple, des investigations impliquant des événements moléculaires cruciaux, y compris les modes de liaison du ligand et les interactions intermoléculaires correspondantes qui stabilisent le complexe ligand-récepteur, peuvent être réalisées de manière pratique (**Huang and Zou 2010**). De plus, les algorithmes d'amarrage moléculaire exécutent des prédictions quantitatives de l'énergie de liaison, fournissant des classements des composés



amarrés en fonction de l'affinité de liaison des complexes ligand-récepteur (Huang and Zou 2010; López-Vallejo, Caulfield et al. 2011).

Dans l'amarrage moléculaire, basé sur les structures protéiques, des milliers de poses d'association possibles sont essayées et évaluées ; la pose avec le score énergétique le plus bas est prédite comme la « meilleure correspondance », c'est-à-dire le mode de liaison. Depuis les travaux pionniers de Kuntz et de ses collègues (Kuntz, Blaney et al. 1982), des progrès significatifs ont été réalisés dans la recherche sur l'amarrage pour améliorer la vitesse et la précision des calculs. Parmi eux, l'amarrage protéine-ligand est un domaine de recherche particulièrement dynamique en raison de son importance pour la conception de médicaments basés sur la structure (Brooijmans and Kuntz 2003).

#### I.4.1. Screening virtuel

Le criblage virtuel est l'application de méthodes *in silico* pour sélectionner des composés prometteurs à partir de bases de données chimiques (Lyne 2002). Il peut être considéré comme la contrepartie informatique des méthodes expérimentales d'évaluation biologique, telles que le criblage à haut débit (HTS) (Stahura and Bajorath 2004). Dans la découverte de médicaments, l'utilisation de grandes bibliothèques de composés chimiquement divers pour le criblage informatique et biologique est l'une des stratégies les plus répandues (Kodadek 2011). Cela a stimulé l'utilisation de screening virtuel comme méthode rapide et rentable pour l'évaluation d'une variété de collections de composés. Habituellement, les stratégies VS se répartissent en deux types principaux : (i) criblage virtuel basé sur le ligand et (ii) basé sur la structure (LBVS et SBVS, respectivement (Figure 09)).

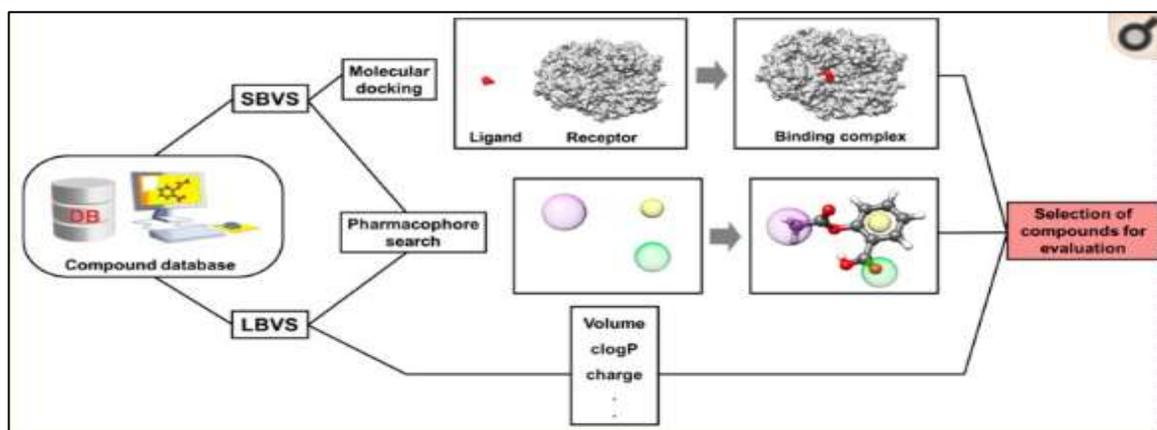


Figure 9 : les approches SBVS et LBVS (Ferreira, Dos Santos et al. 2015)

Les bases de données virtuelles des composées peuvent subir différentes procédures de filtrage. Dans les approches SBVS, la structure tridimensionnelle de la cible moléculaire est utilisée pour identifier des composés compatibles avec les propriétés du site de liaison cible.



Dans la modélisation de pharmacophores, des collections de composés sont utilisées pour générer des modèles structurels qui devraient être présents dans les composés actifs. Dans les études LBVS, des descripteurs moléculaires connus pour être pertinents pour l'activité biologique sont utilisés comme critères de sélection pour identifier des composés appropriés pour une évaluation expérimentale (Ferreira, Dos Santos et al. 2015).

#### I.4.2. Quelques outils du docking moléculaire (l'amarrage moléculaire)

Plusieurs outils (logiciels et programmes) sont utilisés pour le docking moléculaire, dans cette partie, nous allons citer quelques un qui vont être utilisés dans notre étude.

##### a. PyMol

PyMOL est un système de visualisation moléculaire parrainé par l'utilisateur sur une base open source, maintenu et distribué par Schrödinger. PyMOL peut produire des images 3D de haute qualité de petites molécules et de macromolécules biologiques, telles que des protéines. Selon l'auteur original, près d'un quart de toutes les images publiées de structures de protéines 3D dans la littérature scientifique ont été réalisées à l'aide de PyMOL (DeLano 2002).

##### b. PyRx

PyRx est un logiciel de Découverte computationnelle de médicaments utilisé pour cribler des bibliothèques de composés par rapport à des cibles médicamenteuses potentielles. Il s'agit d'une interface utilisateur graphique (GUI) qui utilise un grand nombre de logiciels open source tels qu'AutoDock 4.2 et AutoDock Vina, pour télécharger PyRX <http://pyrx.sourceforge.net/downloads>

##### c. CB-Dock :

CB-Dock est une méthode d'amarrage protéine-ligand qui identifie automatiquement les sites de liaison, calcule le centre et la taille, personnalise la taille de la boîte d'accueil en fonction des ligands de la requête, puis effectue l'amarrage moléculaire avec AutoDock Vina. Des références à grande échelle montrent que l'amarrage axé sur la cavité peut améliorer le taux de réussite et la précision de l'amarrage aveugle. En conséquence, CB-Dock peut faciliter la procédure d'amarrage et améliorer la précision en prédisant les sites de liaison des protéines cibles à l'aide de notre approche de détection de cavité basée sur la courbure (CurPocket) et les poses de liaison des ligands de requête à l'aide d'AutoDock Vina. <http://clab.labshare.cn/cb-dock/php/index.php>

##### d. Les banques de données :



- **PDB (Protein Data Bank)** : Est une collection mondiale de données sur la structure tridimensionnelle (structure 3D) des macromolécules biologiques : protéines essentiellement, et acides nucléiques déterminées expérimentalement.
- **Pub Chem** : C'est une banque de données américaine des molécules chimiques gérée par NCBI (le National Center for Biotechnology Information). Elle contient actuellement plusieurs millions de composés dont la structure et les propriétés physico-chimiques sont gratuitement accessibles. Cette banque a été utilisée pour faire ressortir des similaires structuraux de notre ligand.

# *Chapitre II*

## *Matériel et Méthodes*



## II.1 Objectif

Le développement de nouvelles thérapies est un processus long et coûteux. Il faudra des années pour obtenir le médicament nouvellement développé pour le traitement (Elfiky 2020). La réorientation des médicaments est une stratégie efficace en chimie médicinale pour apporter des solutions plus rapides et efficaces aux besoins médicaux non satisfaits (Gupta, Vemula et al. 2020). La réutilisation de médicaments d'origine naturelle est considérée comme une approche thérapeutique cruciale pour le traitement du COVID-19 (Enmozhi, Raja et al. 2020), compte tenu du rythme rapide de sa propagation dans le monde (Elmezayen, Al-Obaidi et al. 2020).

Dans le présent travail, nous avons choisi deux biomolécules identifiées chez certaines plantes médicinales utilisées comme traitements contre les infections virales telles que la grippe et le COVID-19.

Cette étude vise à montrer comment-ils une variété de composés actifs interagissent avec le **domaine de liaison au récepteur de pointe SARS-CoV-2 lié au récepteur ACE2**.

## II.2 Matériel

Notre étude est une étude *in Silico*, c'est-à-dire, nous allons utiliser certains outils (logiciels et programmes) de bioinformatique pour étudier les interactions moléculaires et l'affinité de certaines molécules bioactives d'origine végétale avec une des principales protéines du SARS-CoV-2.

Donc notre matériel est constitué de :

- Ordinateur portable (Pc portable).
- Source d'internet.
- Logiciels (PyMol, PyRx et...)
- Banques de données (PDB, PUBchem...)

## II.3. Méthodologie de travail

### II.3.1. Choix des molécules d'origine végétale

Avant de choisir les molécules d'origine végétale à tester, nous avons effectué une recherche sur les plantes médicinales utilisées pour soigner la grippe et le rhume.

Nous avons basé sur leurs huiles essentielles pour sélectionner les molécules à étudier. Nous avons choisis les constituants qui ne sont pas étudiés.



Nous avons choisi le **gamma cadinene**, un composé de l'huile essentielle de la plante *Pistacia lentiscus* L ainsi que le **gamma terpinene**, l'un des constituants de l'huile essentielle de la plante *Thymus vulgaris* L.

### II.3.2. Préparation du ligand

#### a. Téléchargement de la structure de la molécule à tester

La structure cristalline 3D des composés actifs (gamma cadinene, gamma-terpinene) extraite de la base de données PubChem (O'Boyle, Banck et al. 2011) à travers le lien suivant : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

- **Étape :**

- Taper le nom de la molécule bioactive (**Gamma-terpinene**) sur PubChem :

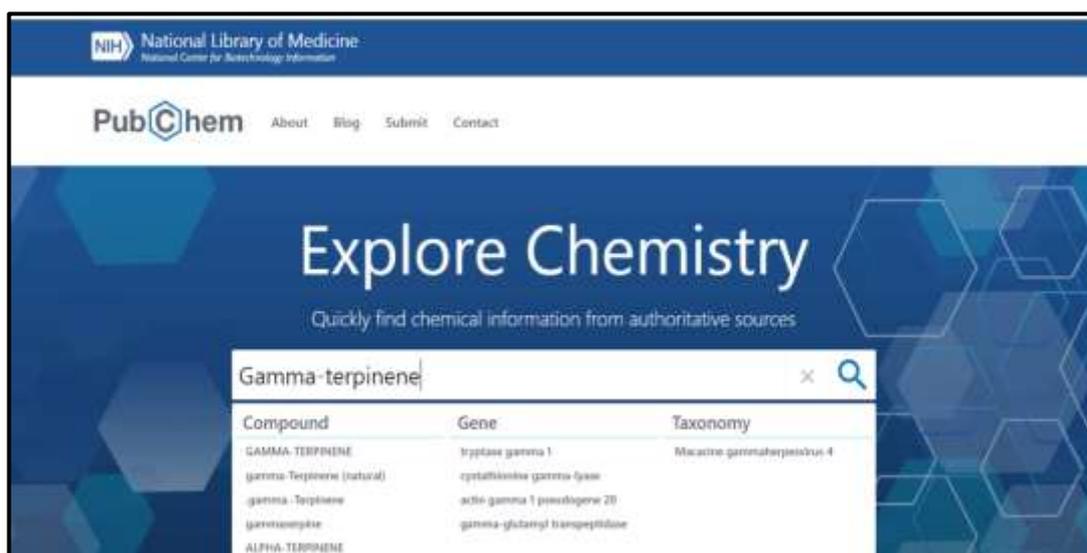
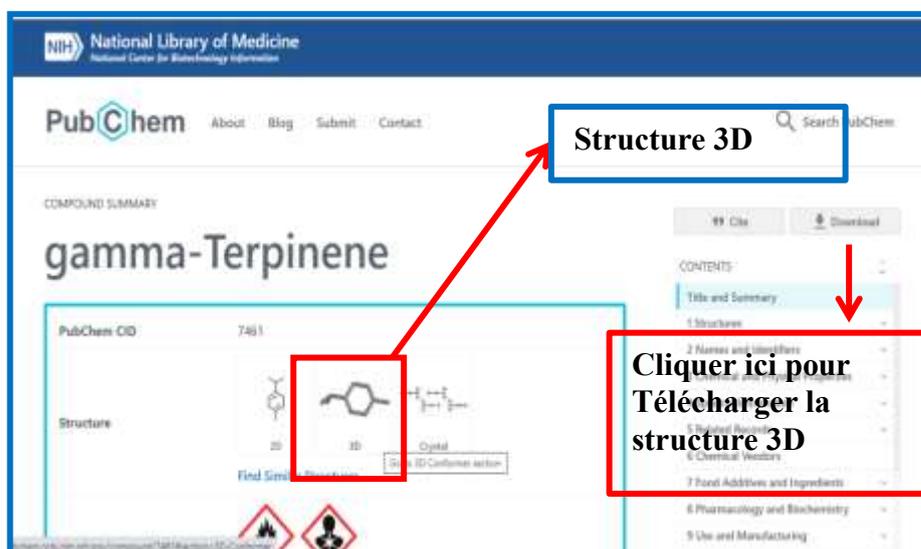


Figure 10 : Recherche de la molécule bioactive sur PubChem

- Pour télécharger la structure « 3D SDF » de la molécule, cliquez sur **Download**



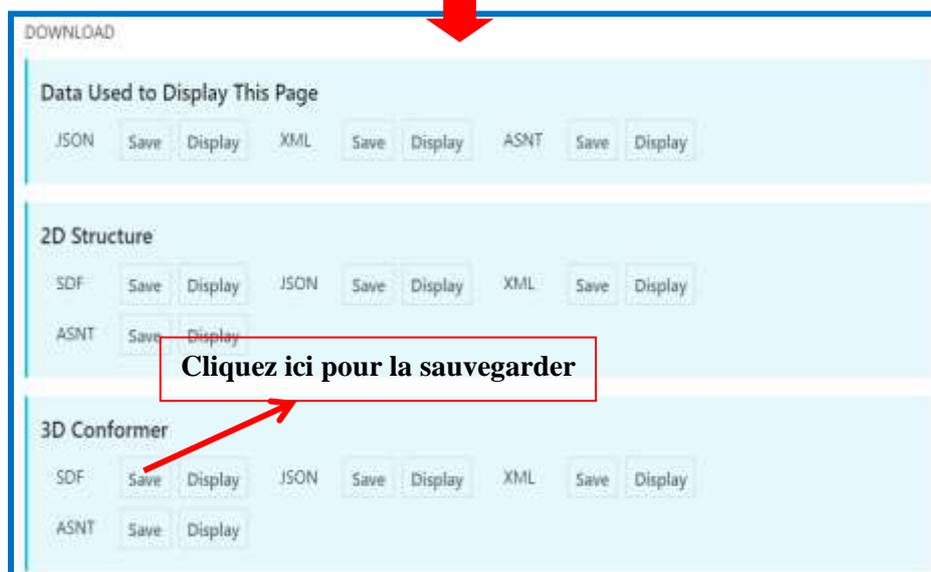
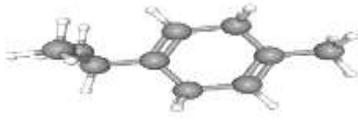


Figure 11 : Téléchargement de la structure 3D format SDF

- Pour que le programme du docking moléculaire reconnaisse la structure de la molécule à étudier, la structure 3D doit être téléchargée en format SDF (Figure 11).
- La structure de gamma cadinene a été téléchargée de la même manière.

Tableau II : Les structures 3D des ligands et leurs codes sur PubChem

Molécule bioactive (ligand)	Code PubChem (PubChem CID)	Structure 3D
GAMMA-TERPINÈNE	7461	 $C_{10}H_{16}$
GAMMA-CADINENE	92313	 $C_{15}H_{24}$

### II.3.3. Choix de la protéine

Pour notre étude, nous avons choisis la protéine avec un code PDB « 6M0J ».

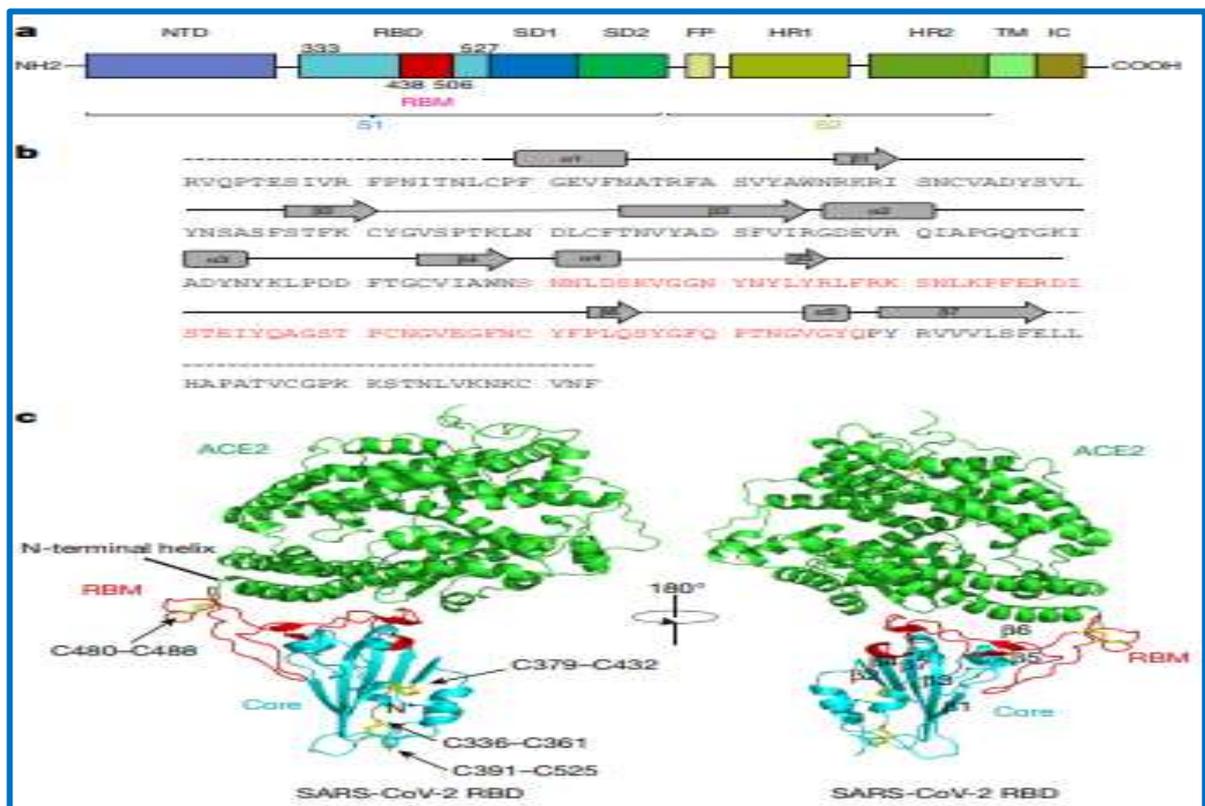
- Quel est le rôle de cette protéine et quelles est sa relation avec le SARS-CoV-2?

Les coronavirus utilisent la glycoprotéine de pointe homotrimérique (comportant une sous-unité S1 et une sous-unité S2 dans chaque monomère de pointe) sur l'enveloppe



Pour se lier à leurs récepteurs cellulaires. Une telle liaison déclenche une cascade d'événements qui conduisent à la fusion entre les membranes cellulaires et virales pour l'entrée cellulaire. Des études antérieures de cryo-microscopie électronique de la protéine de pointe du SRAS-CoV et de son interaction avec le récepteur cellulaire ACE2 ont montré que la liaison au récepteur induit la dissociation du S1 avec l'ACE2, incitant le S2 à passer d'une pré-fusion métastable à une forme plus stable. L'état post-fusion est essentiel pour la fusion membranaire (Gui, Song et al. 2017; Yuan, Cao et al. 2017). Par conséquent, la liaison au récepteur ACE2 est une étape initiale critique pour que le SRAS-CoV pénètre dans les cellules cibles.

Les mesures de liaison *in vitro* ont également montré que le SARS-CoV-2 RBD se lie à ACE2, indiquant que le RBD est un composant fonctionnel clé dans la sous-unité S1 responsable de la liaison du SARS-CoV-2 avec ACE2 (Walls, Park et al. 2020).



**Figure 12 : Structure globale du SARS-CoV-2 RBD lié à ACE2 (Lan, Ge et al. 2020)**

- Topologie globale du monomère de pointe SARS-CoV-2. FP, peptide de fusion; HR1, heptade répéter 1 ; HR2, heptad répéter 2; IC, domaine intracellulaire ; NTD, N-terminal domaine; SD1, sous-domaine 1 ; SD2, sous-domaine 2 ; TM, région transmembranaire.
- Séquence et structures secondaires du SARS-CoV-2 RBD. La séquence RBM est indiquée en rouge.
- Structure globale de la limite SARS-CoV-2 RBD à ACE2. ACE2 est affiché en vert. Le noyau SARS-CoV-2 RBD est représenté en cyan et RBM en rouge. Les liaisons disulfures dans le



SARS-CoV-2 RBD sont représentées sous forme de bâtonnet et indiquées par des flèches. L'hélice N-terminale de l'ACE2 responsable de la liaison est étiquetée.

#### a. Téléchargement le protéine sur PDB :

La structure tridimensionnelle de la protéine cible est téléchargée à partir de la base de données PDB (<https://www.rcsb.org>) **sous format PDB** suivant les étapes suivantes (Figure 13).

- Tapez le code de la protéine sur RCSB PDB. <https://www.rcsb.org>
- Téléchargez la structure de la protéine PDB format 3D.



Figure 13 : Téléchargement de la structure tridimensionnelle de la protéine 6M0J (Structure cristalline)

### II.3.4. Docking moléculaire par PyRx

#### • La protéine 6M0J VS gamma-terpinene

Dans notre étude nous avons utilisé le logiciel **PyRx** pour étudier les interactions moléculaires entre la protéine **domaine de liaison au récepteur de pointe SARS-CoV-2 lié au récepteur ACE2** et les molécules bioactives d'origine végétale.

Dans ce document nous avons détaillé toutes les étapes pour la molécule **gamma-terpinene** et pour le reste des molécules à tester, nous avons suivi les mêmes étapes.

#### a. Insertion de la protéine d'intérêt sur l'espace de travail de PyRX

Afin de parcourir la structure tridimensionnelle de la protéine sur l'espace du travail de PyRx,

- Cliquez sur **File** (utilisez le bouton en haut à gauche comme indiqué sur figure pour recharger la structure 3D de la protéine et les ligands dans PyRx) (Figure 14).
- Cliquez sur **load molécule** (Figure 14).

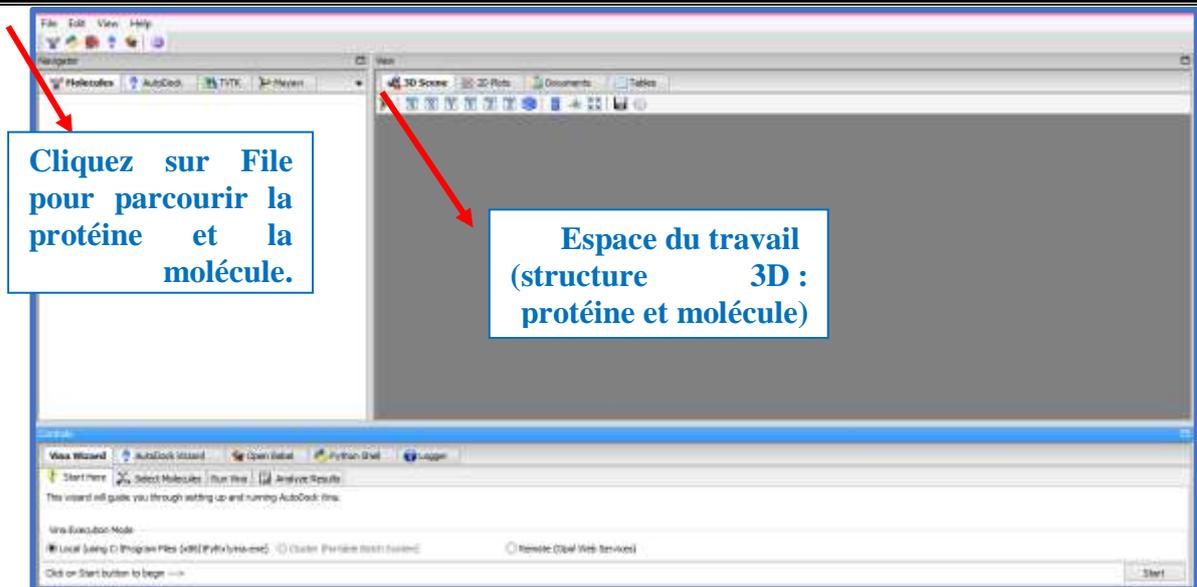


Figure 14 : L'espace de travail sur PyRx

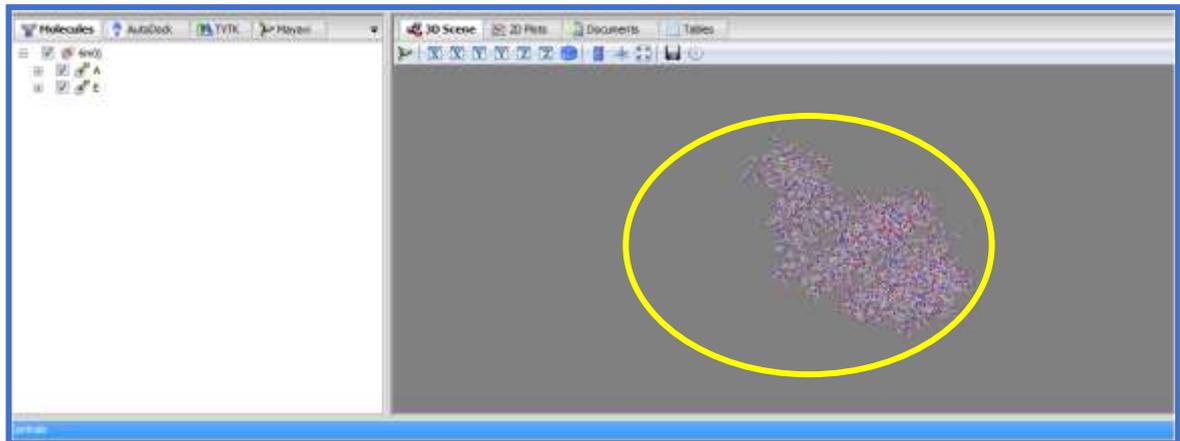


Figure 15: La protéine 6M0J sur PyRx

- Désélectionnez partie E de la protéine et faites un clic sur la protéine A pour la conserver (AutoDock \_ make macromolecule), donc la protéine est prête pour faire le docking (**Figure 16**).

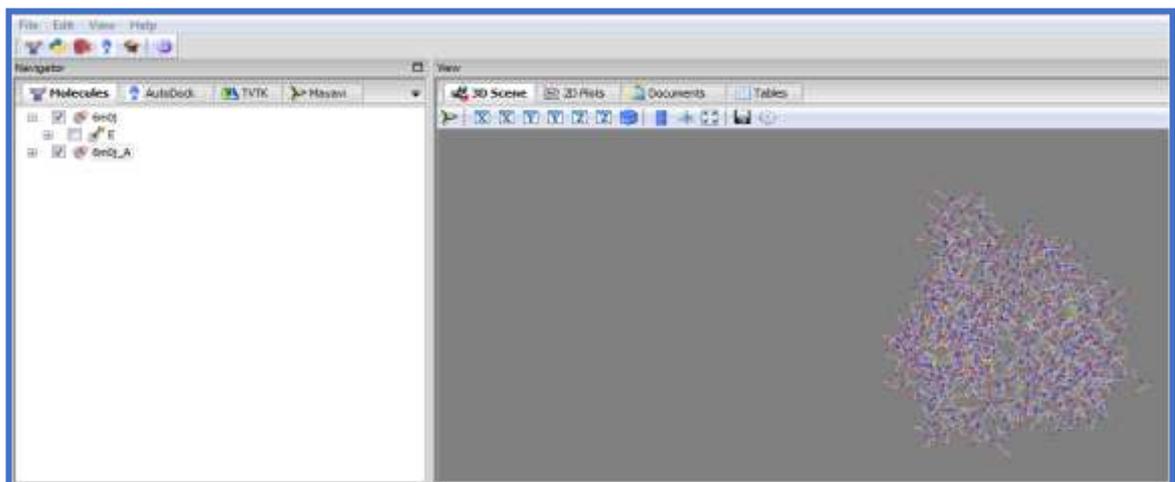
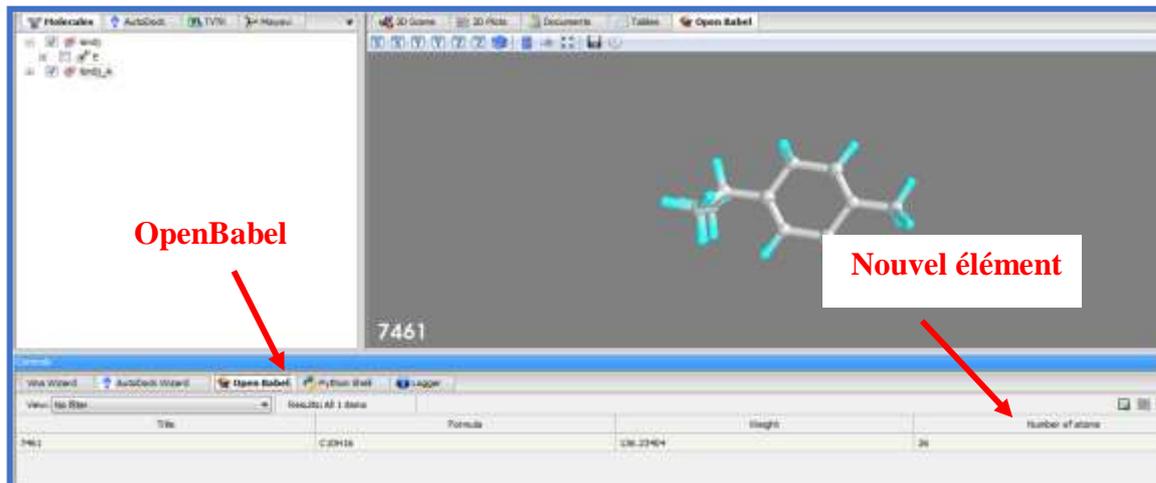


Figure 16: la protéine en macromolécule



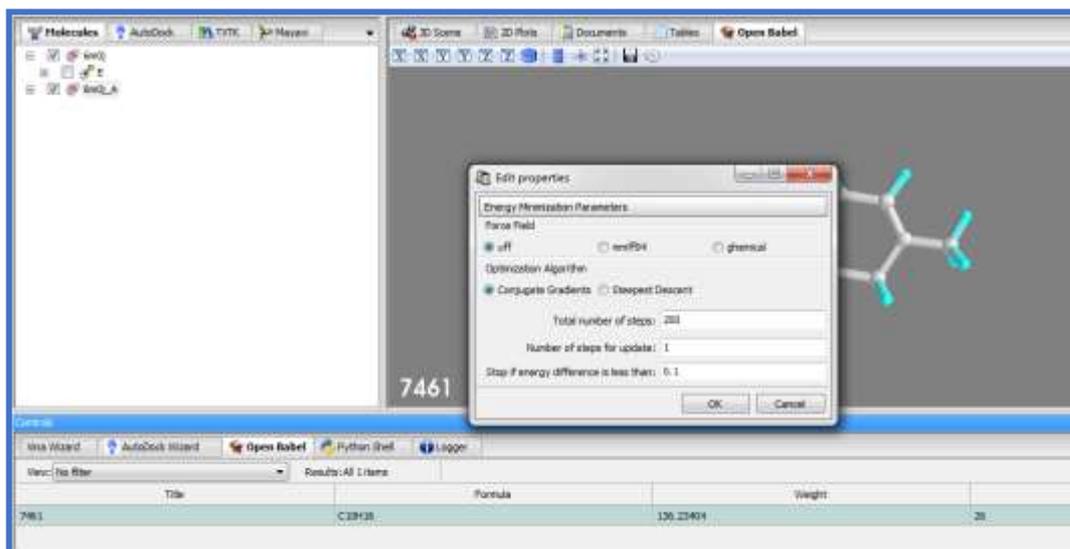
**b. Insertion du ligand (gamma-terpinene) sur l'espace PyRx :**

- Cliquez sur **OpenBabel** en bas de l'espace de travail puis cliquez sur insérer un nouvel élément (insert new item) et sélectionnez le ligand.



**Figure 17: Insertion du ligand (Gamma-terpinene) sur PyRx**

- Pour minimiser l'énergie du ligand, cliquez sur le leur code au fond de la page après cliquez sur **minimiz selected** après cliquez sur ok.
  - L'énergie de ce ligand (**gamma-terpinene**) a été minimisée : **E=63.24**



**Figure 18: Réglage la minimisation d'énergie.**

- Cliquez sur le code deuxième fois et choisissez (**convert selected to AutoDock ligand (pdbqt)** pour convertir la protéine et le ligand.

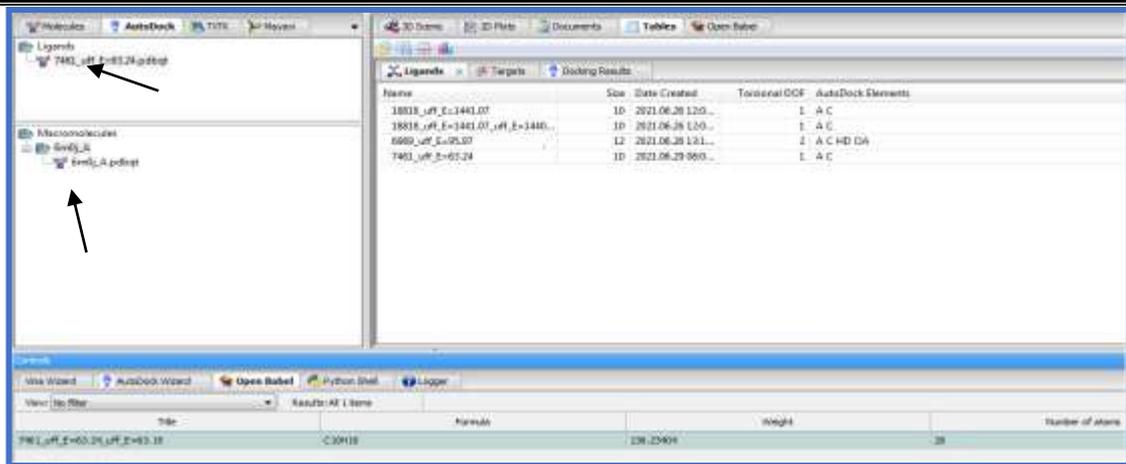


Figure 19: Protéine et ligand prêts pour le docking .

- Cliquez sur **vina wizard** après **start**, après sélectionnez le ligand à tester et à la fin cliquez sur **forward**.

### c. Docking moléculaire

Avant de lancer le docking moléculaire, il faut choisir une zone d'étude. Dans notre cas, nous avons ciblé presque la totalité de notre protéine (**Figure 20**).

La zone de l'étude a été ciblée par un cube, ce dernier est ajustable.

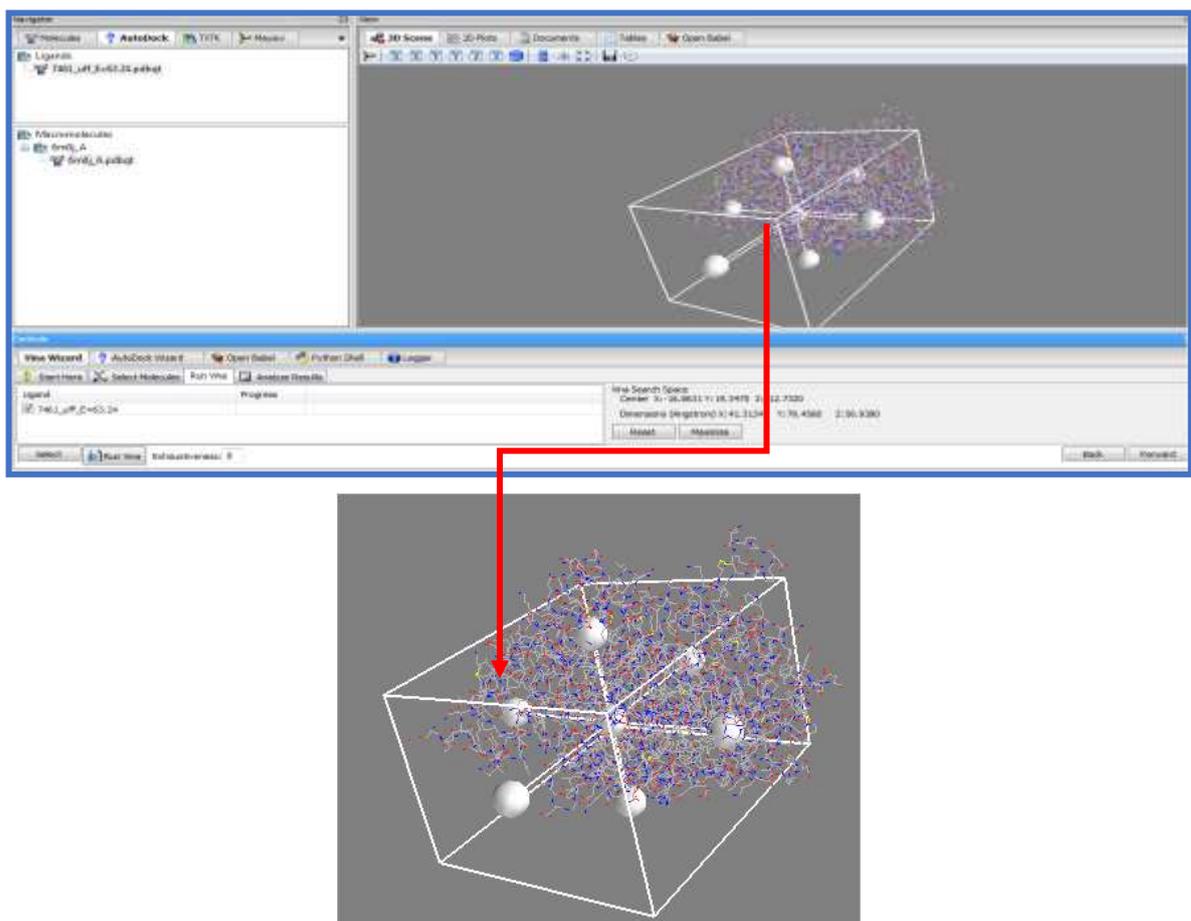


Figure 20: la zone d'étude sur la protéine délimitée par un cube.

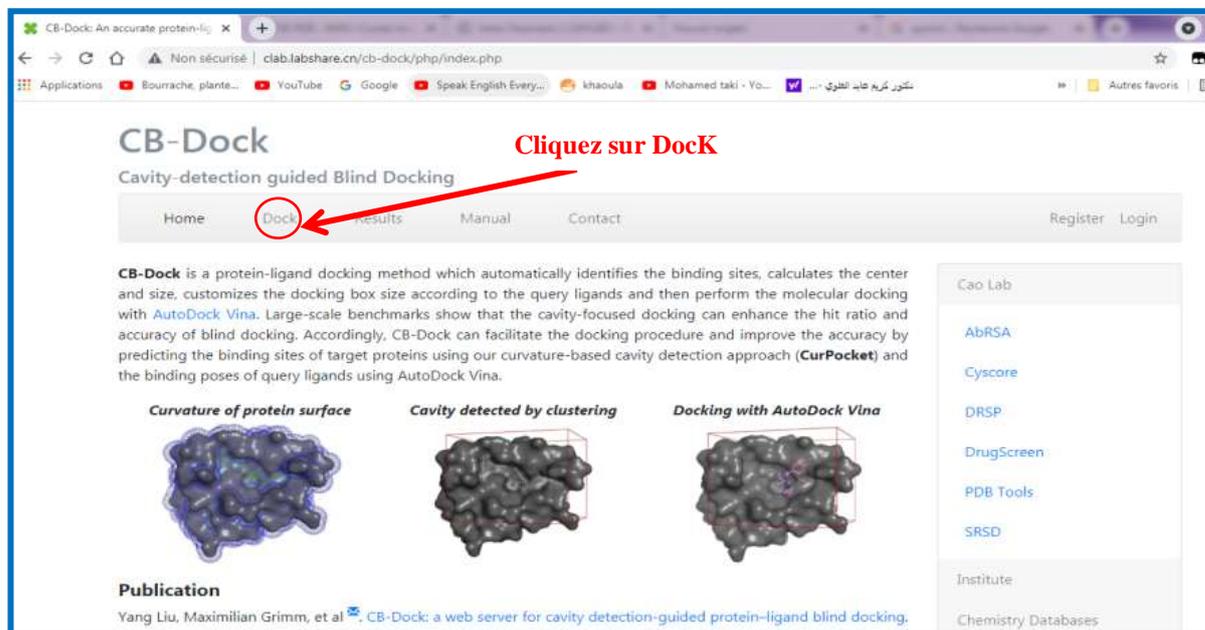


- Mettez le ligand autour de la protéine après cliquez sur **RunVina** pour lancer le docking moléculaire.

### II.3.5. Docking moléculaire sur CB-DOCK

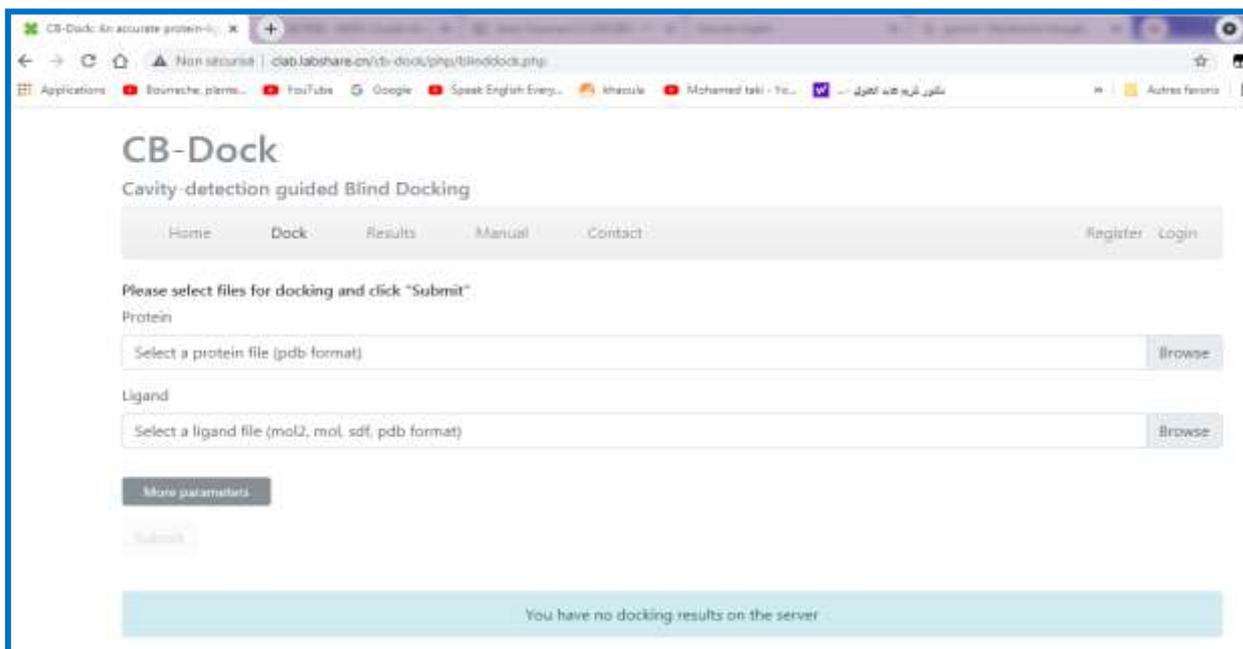
Le CB-DOCK est un programme de docking moléculaire en ligne accessible (**Figure 20**), dans notre étude nous l'avons utilisé comme une deuxième méthode du docking moléculaire.

Afin d'accéder à CB-DOCK, il suffit juste de taper CB-DOCK sur google (**Figure 20**):



**Figure 21: l'interface de CB-DOCK**

Pour lancer notre docking moléculaire, nous avons cliqué sur DOCK (Figure 21 et 22).



**Figure 22: CB-DOCK prêt pour le docking**

Puis insérer la protéine et le ligand après cliquez **submit** pour lancer le docking moléculaire (**Figure 23**).



The screenshot shows the CB-Dock web interface. At the top, there is a navigation bar with links for Home, Dock, Results, Manual, and Contact, along with Register and Login options. Below the navigation bar, a message reads "Please select files for docking and click 'Submit'". The interface is divided into two main sections: "Protein" and "Ligand".

In the "Protein" section, the file "6m0j.pdb" is entered in the text field. Below the field is a blue button labeled "protein uploaded!". To the right of the field are "Browse" and "Remove" buttons. A red arrow points from the text "Cliquez sur browse pour insérer ligand et protéine" to the "Browse" button.

In the "Ligand" section, the file "Conformer3D\_CID\_7461.sdf" is entered in the text field. Below the field is a blue button labeled "ligand uploaded!". To the right of the field are "Browse" and "Remove" buttons. A red arrow points from the text "Cliquez sur browse pour insérer ligand et protéine" to the "Browse" button.

At the bottom of the interface, there is a "More parameters" button and a "Submit" button. A red arrow points from the text "Lancez le docking" to the "Submit" button.

Figure 23 : Insertion du ligand et de la protéine sur CD-DOCK

# *Chapitre III*

## *Résultats et Discussion*



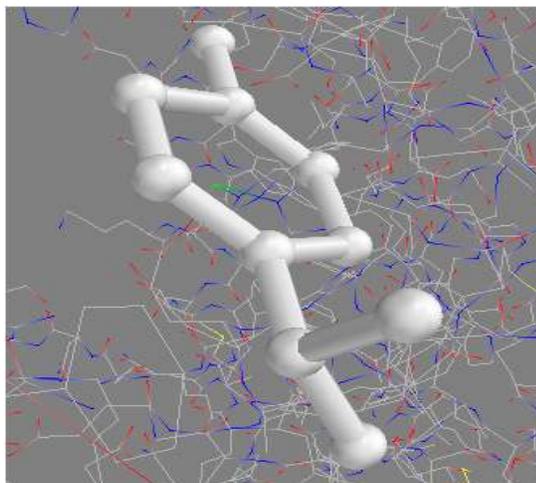
### III.1. Résultats

Dans notre étude, nous avons évalué *in silico* les interactions entre des molécules d'origine végétale et le domaine de liaison au récepteur de glycoprotéine de pointe (S) (RBD) à ACE2, l'une des protéines du SARS-CoV-2.

L'étude *in silico* a été réalisée par la méthode du docking moléculaire (amarrage moléculaire) en utilisant des logiciels : PyRx, PyMol, CB-DOCK.

Les résultats sont représentés par des images récupérées des logiciels ainsi que des tableaux synthétisant des valeurs importantes.

#### III.1.1. 6M0J VS $\gamma$ -terpinene



**Figure 24: Complexe 6M0J VS  $\gamma$ -terpinene (obtenu par PyRx)**

Pour la plupart des logiciels et programmes du docking moléculaire, donnent plusieurs possibilités de liaison et d'affinités ainsi que différentes valeurs du RMSD. Le meilleur résultat est celui qui possède une énergie de liaison la plus basse et une valeur de RMSD plus faible.

Dans le cas de la molécule  $\gamma$ -terpinene, la meilleure énergie de liaison est la plus basse avec une valeur de **(-7,0 Kcal/Mol)** et la valeur du RMSD égale à **0** (Figure 25)

Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
6m0j_A_7461_uFF_E=63.24	-7.0	0	0.0	0.0
6m0j_A_7461_uFF_E=63.24	-6.1	1	0.863	4.549
6m0j_A_7461_uFF_E=63.24	-5.6	2	41.17	43.382
6m0j_A_7461_uFF_E=63.24	-5.3	3	35.261	37.452
6m0j_A_7461_uFF_E=63.24	-5.1	4	35.432	36.503
6m0j_A_7461_uFF_E=63.24	-5.1	5	38.512	32.499
6m0j_A_7461_uFF_E=63.24	-5.3	3	35.261	37.452
6m0j_A_7461_uFF_E=63.24	-5.1	4	35.432	36.503
6m0j_A_7461_uFF_E=63.24	-5.1	5	38.512	32.499

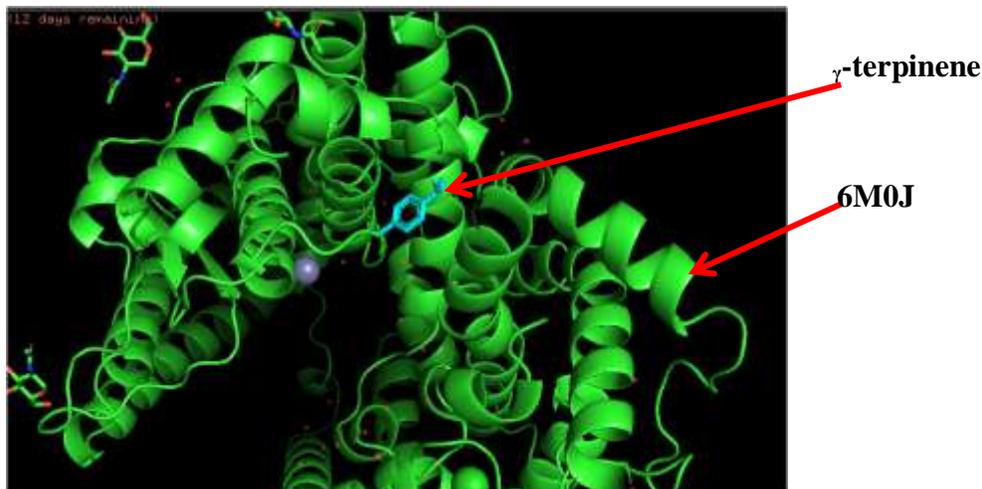
**Meilleurs Affinité  
et RMSD**



**Figure 25:** Les résultats d'affinité et de RMSD obtenus après une analyse par PyRx

➤ **Visualisation par PyMol**

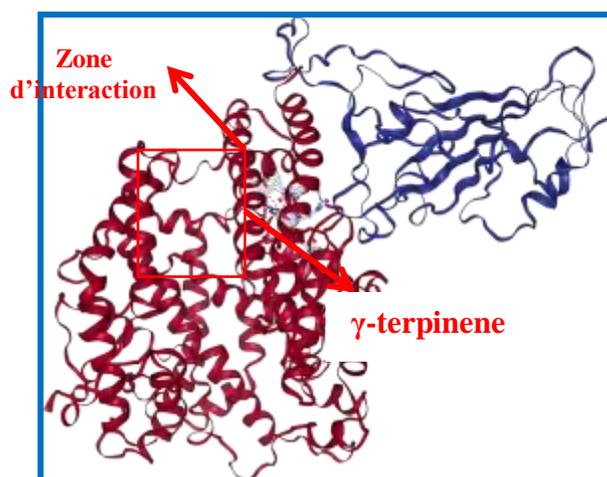
Pour visualiser le complexe constitué entre la molécule étudiée et la protéine cible, nous avons utilisé le logiciel **PyMol** (**Figure 26**).



**Figure 26:** Complexe d'interaction de la protéine 6M0J et  $\gamma$ -terpinene

➤ **Docking sur CB-DOCK**

Après l'ouverture du fichier (**6M0J-  $\gamma$ -terpinene**) sur **CB-Dock**, nous avons obtenu une image sur le complexe d'interaction et une table sur l'affinité de liaisons (**Figure 27**).



**Figure 27:** Interaction entre la protéine (6M0J-  $\gamma$ -terpinene) sur CB-dock

**CB-Dock** est une méthode d'amarrage protéine-ligand qui identifie automatiquement les sites de liaison, calcule le centre et la taille, personnalise la taille de la boîte d'accueil en fonction des



ligands de la requête, puis effectue l'amarrage moléculaire avec AutoDock Vina. Des références à grande échelle montrent que l'amarrage axé sur la cavité peut améliorer le taux de réussite et la précision de l'amarrage aveugle. En conséquence, CB-Dock peut faciliter la procédure d'amarrage et améliorer la précision en prédisant les sites de liaison des protéines cibles à l'aide de notre approche de détection de cavité basée sur la courbure (CurPocket)(Liu, Grimm et al. 2020).

Les résultats d'amarrage moléculaire sont présentés sur le tableau suivant (Tableau III).

**Tableau III: Les résultats de docking sur CB-Dock (6M0J-  $\gamma$ -terpinene)**

Vina score	Cavity size	Center			Size		
		X	Y	Z	X	y	z
-5.3	8092	-16	17	-22	34	35	32
-5.3	706	-31	18	-2	17	25	25
-4.8	227	-38	34	-14	17	17	17
-4.7	724	-35	26	4	17	17	17
-4.3	377	-30	32	-22	17	17	17

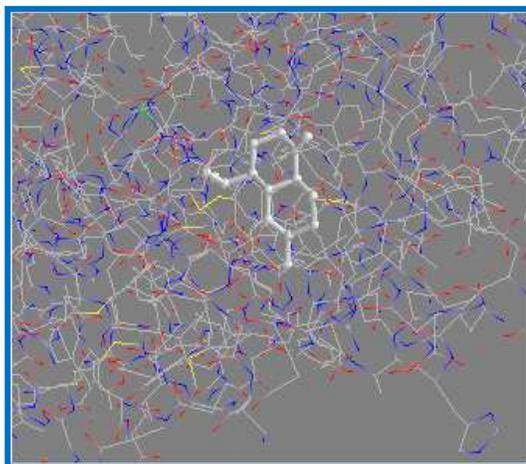
Le tableau répertorie les scores Vina, les tailles de cavité, les centres d'amarrage et les tailles de cavités prévues.

Dans notre exemple (6M0J-  $\gamma$ -terpinene), le mode de liaison supérieur avec un score Vina de -5,3 Kcal/Mol avait également la plus grande cavité de liaison (8092) (première ligne du tableau).

### III.1.2. 6M0J VS $\gamma$ -cadinene

#### ➤ Docking

par PyRx



**Figure 28: Complexe 6M0J VS  $\gamma$ -cadinene (obtenu par PyRx)**



Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
6M0J_A_92313_uFF_E=194.05	-6.1	0	0.0	0.0
6M0J_A_92313_uFF_E=194.05	-6.0	1	1.385	5.181
6M0J_A_92313_uFF_E=194.05	-6.0	2	1.71	4.366

Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
6M0J_A_92313_uFF_E=194.05	-6.0	1	1.71	4.366
6M0J_A_92313_uFF_E=194.05	-6.9	3	20.8	26.487
6M0J_A_92313_uFF_E=194.05	-6.9	4	5.242	3.024

Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
6M0J_A_92313_uFF_E=194.05	-6.7	6	2.428	5.489
6M0J_A_92313_uFF_E=194.05	-6.7	7	11.62	14.831
6M0J_A_92313_uFF_E=194.05	-5.4	8	20.012	31.613

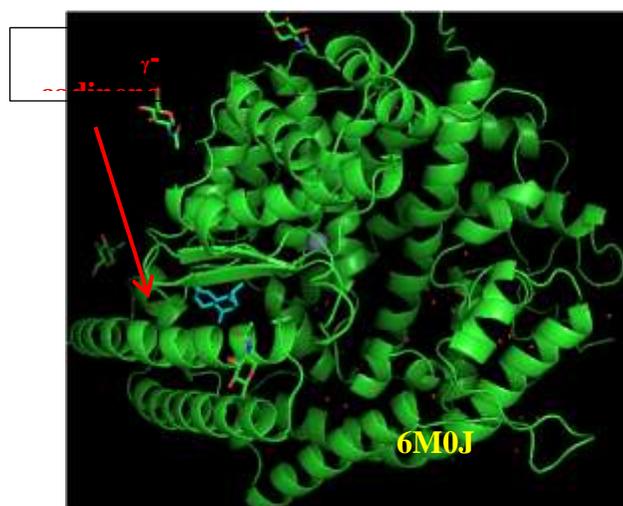
Meilleurs  
Affinité et RMSD

**Figure 29:** Les résultats d'affinité et de RMSD du complexe (6M0J -  $\gamma$ -cadinene) obtenus après une analyse par PyRx

Le docking moléculaire de la molécule  $\gamma$ -cadinene contre la protéine 6M0J a montré que la meilleure énergie de liaison obtenue est de l'ordre de (-6,1 Kcal/Mol) avec une valeur de RMSD égale à 0.

#### ➤ Visualisation par PyMol

La visualisation du complexe obtenu (6M0J-  $\gamma$ -cadinene) par le logiciel PyMol nous a permis l'obtention de la figure suivante (Figure 30) :



**Figure 30:** le complexe (6M0J-  $\gamma$ -cadinene) visualisé avec PyMol

#### ➤ Docking sur CB-DOCK

Le docking moléculaire par CB-DOCK a montré que le complexe (6M0J- $\gamma$ -cadinene) a un mode de liaison supérieur avec un score Vina de (-6,3 Kcal/Mol) et une cavité de (706).

Par contre, avec une cavité de (8092), le complexe a un mode de liaison supérieur avec un score Vina de (-6,2 Kcal/Mol) (Tableau IV) (Figure 31).

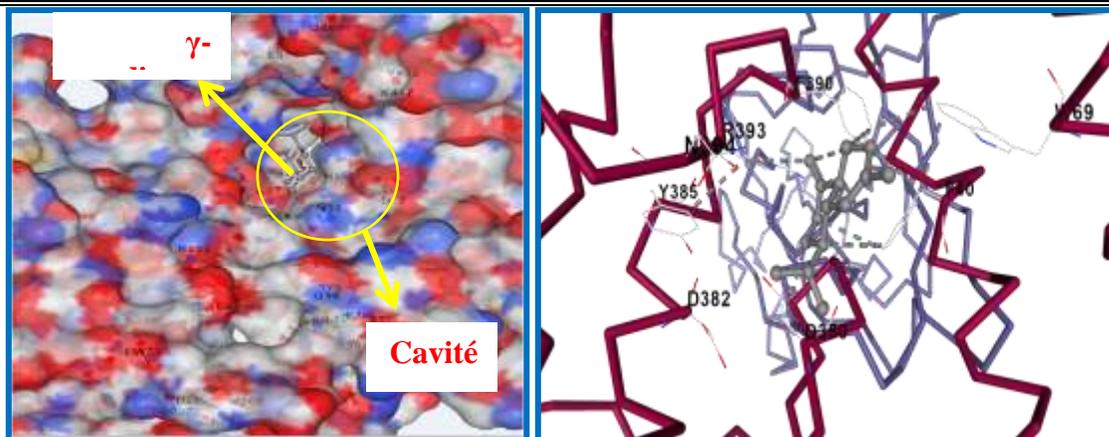


Figure 31: Interaction entre la protéine (6M0J-  $\gamma$ -cadinene) sur CB-dock

Tableau IV : Les résultats de docking sur CB-Dock (6M0J-  $\gamma$ -cadinene)

Vina score	Cavity size	Center			Size		
		x	y	z	x	y	Z
-6.3	706	-31	18	-2	18	25	25
-6.2	8092	-16	17	-22	34	35	32
-5.7	227	-38	34	-14	18	18	18
-5.6	377	-30	32	-22	18	18	18
-4.9	724	-35	26	4	18	18	18

### III.2. Discussion

Les coronavirus infectent depuis longtemps les humains et les animaux et provoquent des maladies respiratoires, digestives, hépatiques et du système nerveux central (To, Hung et al. 2013). Un nouveau SARS-CoV-2 a émergé et présente aujourd'hui des menaces majeures pour la santé humaine (Zhu, Zhang et al. 2020). L'accent a été mis sur la gestion clinique qui comprend la prévention des infections, les mesures de contrôle et les soins de soutien. Actuellement, aucune thérapie clinique spécifique n'est disponible pour le traitement des infections à médiation par le SRAS-CoV-2 (Zhou, Hou et al. 2020). Ainsi, le besoin de l'heure est d'identifier et de caractériser de nouveaux candidats médicaments pour surmonter les pertes de santé causées par le SRAS-CoV-2.

Les produits naturels ont gagné une importance en tant qu'agents antiviraux puissants au cours des dernières années (Martinez, Sasse et al. 2015). Compte tenu du besoin immédiat de thérapies contre COVID-19 et de services de produits naturels dans la découverte de médicaments, nous avons criblé deux phytoconstituants ( $\gamma$ -terpinene et  $\gamma$ -cadinene) en tant que nouvelles molécules contre le **domaine de liaison au récepteur de pointe SARS-CoV-2 lié au récepteur ACE2**.



Dans notre étude, nous avons réalisé un docking moléculaire pour les deux molécules par deux méthodes : par **PyRx** et par **CB-DOCK**.

D'une manière générale, après criblage virtuel, la reconnaissance des composés inhibiteurs se concentre sur deux critères principaux : énergie de liaison, les énergies (RMSD).

Les molécules qui avaient l'énergie de liaison la plus faible du score d'amarrage étaient considérées comme les meilleures molécules et inhibent le récepteur cible car la plus faible énergie de liaison correspond à une affinité de liaison plus élevée (**Simon, Imane et al. 2017**).

Nos résultats sur **PyRx** montrent que la meilleure affinité à la protéine testée (6M0J) est celle de gamma-terpinene avec une énergie de liaison de **(-7,0 Kcal/Mol)** et une valeur de RMSD égale à **0**.

Le gamma-cadinene a présenté une affinité de **(-6,1 Kcal/Mol)**, cette dernière est légèrement faible par rapport à celle de gamma-terpinene **(-7 Kcal/Mol)**.

Contrairement aux résultats obtenus sur **CB-DOCK**, le gamma-cadinene avait une meilleure affinité **(-6,3 Kcal/Mol)** par rapport au gamma-terpinene dont l'affinité est de **(-5,3 Kcal/Mol)**.

Le  $\gamma$ -terpinene a été étudié par un docking moléculaire pour son inhibition de l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2), il a été démontré que ce composé a la capacité d'inhiber cette enzyme et l'énergie de liaison était de **(-4,3 Kcal/Mol)** (**Abdelli, Hassani et al. 2021**).

(**Amparo, Seibert et al. 2021**) ont étudié l'effet inhibiteur de  $\gamma$ -cadinene sur les protéines du SARS-CoV-2 : PLpro, protéase principale, également appelée 3CLpro, protéine S et RdRp. Les résultats ont montré que  $\gamma$ -cadinene présentait une valeur d'énergie de liaison faible contre les cibles, ce qui signifie sa capacité d'inhibition.

L'inhibition de la protéine ayant le code PDB (6M0J) (domaine de liaison au récepteur de pointe SARS-CoV-2 lié au récepteur ACE2) a été étudiée par (**Teli, Shah et al. 2021**). Par la méthode de docking moléculaire, Les résultats indiquent un meilleur potentiel de la solanine, de l'acétoside et de la rutine, en tant qu'inhibiteurs doubles de la Mpro et de la glycoprotéine de pointe RBD.



## Conclusion

Le but de notre étude est d'étudier la puissance des composés naturels tels que : Gamma terpinène, et le gamma cadinène de la plante lentisque en tant qu'inhibiteurs de la cible du domaine de liaison au récepteur de pointe SARS-CoV-2 lié au récepteur ACE2.

Ces composés ont été testés *in silico* en utilisant la méthode du docking moléculaire (amarrage moléculaire).

Nous avons suivi deux méthodes du docking moléculaire, pour la première, nous avons utilisé le logiciel PyRx, dans la deuxième, nous avons utilisé un programme accessible en ligne qui est : CB-DOCK.

Le docking moléculaire par PyRx a montré que le  $\gamma$ -terpinene avec la plus faible énergie de liaison a une bonne puissance d'inhibition par rapport au composé  $\gamma$ -cadinne.

Contrairement au CB-DOCK, ce dernier a montré que  $\gamma$ -cadinne a une meilleure inhibition.

Cette étude, ce n'est qu'une étude préliminaire pour la recherche de nouveaux inhibiteurs d'origine naturelle, pour cela,

En perspectives, nous envisageant à étudier plus profondément,

- ✓ Les types de liaison chimiques liant la molécule testée et la protéine ciblent.
- ✓ Etudier la dynamique moléculaire.
- ✓ Cibler d'autres protéines du SARS-CoV-2 ainsi que un nombre élevé de ligands d'origine végétale
- ✓ Enfin, confirmer pourquoi pas nos résultats par des études *in vivo*.

# *Conclusion générale*



## Conclusion générale

Le but de notre étude est d'étudier la puissance des composés naturels tels que : Gamma terpinéne, et le gamma cadinéne de la plante lentisque en tant qu'inhibiteurs de la cible du domaine de liaison au récepteur de pointe SARS-CoV-2 lié au récepteur ACE2.

Ces composés ont été testés *in silico* en utilisant la méthode du docking moléculaire (amarrage moléculaire).

Nous avons suivi deux méthodes du docking moléculaire, pour la première, nous avons utilisé le logiciel PyRx, dans la deuxième, nous avons utilisé un programme accessible en ligne qui est : CB-DOCK.

Le docking moléculaire par PyRx a montré que le  $\gamma$ -terpinene avec la plus faible énergie de liaison a une bonne puissance d'inhibition par rapport au composé  $\gamma$ -cadinne.

Contrairement au CB-DOCK, ce dernier a montré que  $\gamma$ -cadinne a une meilleure inhibition.

Cette étude, ce n'est qu'une étude préliminaire pour la recherche de nouveaux inhibiteurs d'origine naturelle, pour cela,

En perspectives, nous envisageant à étudier plus profondément,

- ✓ Les types de liaison chimiques liant la molécule testée et la protéine cible.
- ✓ Etudier la dynamique moléculaire.
- ✓ Cibler d'autres protéines du SARS-CoV-2 ainsi que un nombre élevé de ligands d'origine végétale
- ✓ Enfin, confirmer pourquoi pas nos résultats par des études *in vivo*.

# *Références bibliographiques*



## Références Bibliographiques

- ✓ Abdelli, I., F. Hassani, et al. (2021). "In silico study the inhibition of angiotensin converting enzyme 2 receptor of COVID-19 by *Ammoides verticillata* components harvested from Western Algeria." Journal of Biomolecular Structure and Dynamics **39**(9): 3263-3276.
- ✓ Amanat, F. and F. Krammer (2020). "SARS-CoV-2 vaccines: status report." Immunity **52**(4): 583-589.
- ✓ Amparo, T. R., J. B. Seibert, et al. (2021). "Brazilian essential oils as source for the discovery of new anti-COVID-19 drug: a review guided by in silico study." Phytochemistry Reviews: 1-20.
- ✓ Arya, A. and V. D. Dwivedi (2020). "Synergistic effect of Vitamin D and Remdesivir can fight COVID-19." Journal of Biomolecular Structure and Dynamics: 1-2.
- ✓ Awadasseid, A., Y. Wu, et al. (2021). "Current advances in the development of SARS-CoV-2 vaccines." International Journal of Biological Sciences **17**(1): 8.
- ✓ Ben-Shabat, S., L. Yarmolinsky, et al. (2020). "Antiviral effect of phytochemicals from medicinal plants: Applications and drug delivery strategies." Drug delivery and translational research **10**(2): 354-367.
- ✓ Bertram, S., I. Glowacka, et al. (2011). "Cleavage and activation of the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein by human airway trypsin-like protease." Journal of Virology **85**(24): 13363-13372.
- ✓ Bournsnel, M., T. Brown, et al. (1987). "Completion of the sequence of the genome of the coronavirus avian infectious bronchitis virus." Journal of General Virology **68**(1): 57-77.
- ✓ Brooijmans, N. and I. D. Kuntz (2003). "Molecular recognition and docking algorithms." Annual review of biophysics and biomolecular structure **32**(1): 335-373.
- ✓ Cascella, M., M. Rajnik, et al. (2021). "Features, evaluation, and treatment of coronavirus (COVID-19)." StatPearls.
- ✓ Chan, J. F.-W., K.-H. Kok, et al. (2020). "Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan." Emerging microbes & infections **9**(1): 221-236.
- ✓ Chen, Y., Q. Liu, et al. (2020). "Emerging coronaviruses: genome structure, replication, and pathogenesis." Journal of medical virology **92**(4): 418-423.
- ✓ Chu, H., J. F.-W. Chan, et al. (2020). "Comparative tropism, replication kinetics, and cell damage profiling of SARS-CoV-2 and SARS-CoV with implications for clinical manifestations,



- transmissibility, and laboratory studies of COVID-19: an observational study." The Lancet Microbe **1**(1): e14-e23.
- ✓ Corman, V. M., D. Muth, et al. (2018). "Hosts and sources of endemic human coronaviruses." Advances in virus research **100**: 163-188.
- ✓ DeLano, W. L. (2002). "Pymol: An open-source molecular graphics tool." CCP4 Newsletter on protein crystallography **40**(1): 82-92.
- ✓ Denison, M. R. and S. Perlman (1986). "Translation and processing of mouse hepatitis virus virion RNA in a cell-free system." Journal of Virology **60**(1): 12.
- ✓ Elfiky, A. A. (2020). "Natural products may interfere with SARS-CoV-2 attachment to the host cell." Journal of Biomolecular Structure and Dynamics: 1-10.
- ✓ Elmezayen, A. D., A. Al-Obaidi, et al. (2020). "Drug repurposing for coronavirus (COVID-19): in silico screening of known drugs against coronavirus 3CL hydrolase and protease enzymes." Journal of Biomolecular Structure and Dynamics: 1-13.
- ✓ Enmozhi, S. K., K. Raja, et al. (2020). "Andrographolide as a potential inhibitor of SARS-CoV-2 main protease: An in silico approach." Journal of Biomolecular Structure and Dynamics: 1-7.
- ✓ Fehr, A. R. and S. Perlman (2015). "Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis." Coronaviruses: 1-23.
- ✓ Ferreira, L. G., R. N. Dos Santos, et al. (2015). "Molecular docking and structure-based drug design strategies." Molecules **20**(7): 13384-13421.
- ✓ Fung, T. S. and D. X. Liu (2014). "Coronavirus infection, ER stress, apoptosis and innate immunity." Frontiers in microbiology **5**: 296.
- ✓ Gao, Y., L. Yan, et al. (2020). "Structure of the RNA-dependent RNA polymerase from COVID-19 virus." Science **368**(6492): 779-782.
- ✓ Gorbalenya, A. E., S. C. Baker, et al. (2020). "Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2." Nat. Microbiol **5**(4): 536-544.
- ✓ Gosert, R., A. Kanjanahaluethai, et al. (2002). "RNA replication of mouse hepatitis virus takes place at double-membrane vesicles." Journal of Virology **76**(8): 3697.
- ✓ Gui, M., W. Song, et al. (2017). "Cryo-electron microscopy structures of the SARS-CoV spike glycoprotein reveal a prerequisite conformational state for receptor binding." Cell research **27**(1): 119-129.



- ✓ Gupta, M. K., S. Vemula, et al. (2020). "In-silico approaches to detect inhibitors of the human severe acute respiratory syndrome coronavirus envelope protein ion channel." Journal of Biomolecular Structure and Dynamics: 1-11.
- ✓ Gurwitz, D. (2020). "Angiotensin receptor blockers as tentative SARS-CoV-2 therapeutics." Drug development research **81**(5): 537-540.
- ✓ Hamre, D. and J. J. Procknow (1966). "A new virus isolated from the human respiratory tract." Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine **121**(1): 190-193.
- ✓ Hasoksuz, M., S. Lathrop, et al. (1999). "Antigenic variation among bovine enteric coronaviruses (BECV) and bovine respiratory coronaviruses (BRCV) detected using monoclonal antibodies." Archives of virology **144**(12): 2441-2447.
- ✓ Hoffmann, M., H. Kleine-Weber, et al. (2020). "SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor." cell **181**(2): 271-280. e278.
- ✓ Hu, B., H. Guo, et al. (2020). "Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19." Nature Reviews Microbiology: 1-14.
- ✓ Huang, S.-Y. and X. Zou (2010). "Advances and challenges in protein-ligand docking." International journal of molecular sciences **11**(8): 3016-3034.
- ✓ Jayaweera, M., H. Perera, et al. (2020). "Transmission of COVID-19 virus by droplets and aerosols: A critical review on the unresolved dichotomy." Environmental research **188**: 109819.
- ✓ Jin, Z., Y. Zhao, et al. (2020). "Structural basis for the inhibition of SARS-CoV-2 main protease by antineoplastic drug carmofur." Nature structural & molecular biology **27**(6): 529-532.
- ✓ Karamloo, F. and R. König (2020). "SARS-CoV-2 immunogenicity at the crossroads." Allergy **75**(7): 1822-1824.
- ✓ Kodadek, T. (2011). "The rise, fall and reinvention of combinatorial chemistry." Chemical communications **47**(35): 9757-9763.
- ✓ Koetzner, C. A., M. M. Parker, et al. (1992). "Repair and mutagenesis of the genome of a deletion mutant of the coronavirus mouse hepatitis virus by targeted RNA recombination." Journal of Virology **66**(4): 1841.
- ✓ Kuntz, I. D., J. M. Blaney, et al. (1982). "A geometric approach to macromolecule-ligand interactions." Journal of molecular biology **161**(2): 269-288.
- ✓ Lan, J., J. Ge, et al. (2020). "Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor." Nature **581**(7807): 215-220.
- ✓ Letko, M., A. Marzi, et al. (2020). "Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses." Nature microbiology **5**(4): 562-569.



- ✓ Li, W., M. J. Moore, et al. (2003). "Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus." Nature **426**(6965): 450-454.
- ✓ Liu, Y., M. Grimm, et al. (2020). "CB-Dock: a web server for cavity detection-guided protein–ligand blind docking." Acta Pharmacologica Sinica **41**(1): 138-144.
- ✓ López-Vallejo, F., T. Caulfield, et al. (2011). "Integrating virtual screening and combinatorial chemistry for accelerated drug discovery." Combinatorial chemistry & high throughput screening **14**(6): 475-487.
- ✓ Lyne, P. D. (2002). "Structure-based virtual screening: an overview." Drug Discovery Today **7**(20): 1047-1055.
- ✓ Mahady, G. B. (2005). "Medicinal plants for the prevention and treatment of bacterial infections." Current pharmaceutical design **11**(19): 2405-2427.
- ✓ Martinez, J., F. Sasse, et al. (2015). "Antiviral drug discovery: broad-spectrum drugs from nature." Natural product reports **32**(1): 29-48.
- ✓ McIntosh, K., J. H. Dees, et al. (1967). "Recovery in tracheal organ cultures of novel viruses from patients with respiratory disease." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **57**(4): 933.
- ✓ Memish, Z. A., N. Mishra, et al. (2013). "Middle East respiratory syndrome coronavirus in bats, Saudi Arabia." Emerging infectious diseases **19**(11): 1819.
- ✓ Neuman, B. W., G. Kiss, et al. (2011). "A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology." Journal of structural biology **174**(1): 11-22.
- ✓ O'Boyle, N. M., M. Banck, et al. (2011). "Open Babel: An open chemical toolbox." Journal of cheminformatics **3**(1): 1-14.
- ✓ Papageorgiou, A. C. and I. Mohsin (2020). "The SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein as a Drug and Vaccine Target: Structural Insights into Its Complexes with ACE2 and Antibodies." Cells **9**(11): 2343.
- ✓ Perlman, S. and J. Netland (2009). "Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis." Nature Reviews Microbiology **7**(6): 439-450.
- ✓ Pinzi, L. and G. Rastelli (2019). "Molecular docking: Shifting paradigms in drug discovery." International journal of molecular sciences **20**(18): 4331.
- ✓ Satija, N. and S. K. Lal (2007). "The molecular biology of SARS coronavirus." Annals of the New York Academy of Sciences **1102**(1): 26.
- ✓ Sawicki, S. G. and D. L. Sawicki (1995). "Coronaviruses use discontinuous extension for synthesis of subgenome-length negative strands." Corona-and Related Viruses: 499-506.



- ✓ Schalk, A. (1931). "An apparently new respiratory disease of baby chicks." J. Am. Vet. Med. Assoc. **78**: 413-423.
- ✓ Schoeman, D. and B. C. Fielding (2019). "Coronavirus envelope protein: current knowledge." Virology journal **16**(1): 1-22.
- ✓ Sia, S. F., L.-M. Yan, et al. (2020). "Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in golden hamsters." Nature **583**(7818): 834-838.
- ✓ Siegel, D., H. C. Hui, et al. (2017). Discovery and synthesis of a phosphoramidate prodrug of a pyrrolo [2, 1-f][triazin-4-amino] adenine C-nucleoside (GS-5734) for the treatment of Ebola and emerging viruses, ACS Publications.
- ✓ Simon, L., A. Imane, et al. (2017). "In silico drug-designing studies on flavanoids as anticancer agents: Pharmacophore mapping, molecular docking, and Monte Carlo method-based QSAR modeling." Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences **9**(3): 445-458.
- ✓ Siu, Y., K. Teoh, et al. (2008). "The M, E, and N structural proteins of the severe acute respiratory syndrome coronavirus are required for efficient assembly, trafficking, and release of virus-like particles." Journal of Virology **82**(22): 11318-11330.
- ✓ Stahura, F. L. and J. Bajorath (2004). "Virtual screening methods that complement HTS." Combinatorial chemistry & high throughput screening **7**(4): 259-269.
- ✓ Sun, J., A. Zhu, et al. (2020). "Isolation of infectious SARS-CoV-2 from urine of a COVID-19 patient." Emerging microbes & infections **9**(1): 991-993.
- ✓ Sun, P., X. Lu, et al. (2020). "Understanding of COVID-19 based on current evidence." Journal of medical virology **92**(6): 548-551.
- ✓ Teli, D. M., M. B. Shah, et al. (2021). "In silico Screening of Natural Compounds as Potential Inhibitors of SARS-CoV-2 Main Protease and Spike RBD: Targets for COVID-19." Frontiers in molecular biosciences **7**: 429.
- ✓ Thiel, V., J. Herold, et al. (2001). "Infectious RNA transcribed in vitro from a cDNA copy of the human coronavirus genome cloned in vaccinia virus. The GenBank accession number of the sequence reported in this paper is AF304460." Journal of General Virology **82**(6): 1273-1281.
- ✓ To, K. K., I. F. Hung, et al. (2013). "From SARS coronavirus to novel animal and human coronaviruses." Journal of thoracic disease **5**(Suppl 2): S103.
- ✓ Tu, Y.-F., C.-S. Chien, et al. (2020). "A review of SARS-CoV-2 and the ongoing clinical trials." International journal of molecular sciences **21**(7): 2657.
- ✓ V'kovski, P., A. Kratzel, et al. (2021). "Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2." Nature Reviews Microbiology **19**(3): 155-170.



- ✓ Van Doremalen, N., T. Bushmaker, et al. (2020). "Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1." New England Journal of Medicine **382**(16): 1564-1567.
- ✓ Walls, A. C., Y.-J. Park, et al. (2020). "Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein." cell **181**(2): 281-292. e286.
- ✓ Wang, M.-Y., R. Zhao, et al. (2020). "SARS-CoV-2: structure, biology, and structure-based therapeutics development." Frontiers in cellular and infection microbiology **10**.
- ✓ Wölfel, R., V. M. Corman, et al. (2020). "Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019." Nature **581**(7809): 465-469.
- ✓ Wu, F., S. Zhao, et al. (2020). "A new coronavirus associated with human respiratory disease in China." Nature **579**(7798): 265-269.
- ✓ Xia, S., M. Liu, et al. (2020). "Inhibition of SARS-CoV-2 (previously 2019-nCoV) infection by a highly potent pan-coronavirus fusion inhibitor targeting its spike protein that harbors a high capacity to mediate membrane fusion." Cell research **30**(4): 343-355.
- ✓ Xia, S., Y. Zhu, et al. (2020). "Fusion mechanism of 2019-nCoV and fusion inhibitors targeting HR1 domain in spike protein." Cellular & molecular immunology: 1-3.
- ✓ Yuan, Y., D. Cao, et al. (2017). "Cryo-EM structures of MERS-CoV and SARS-CoV spike glycoproteins reveal the dynamic receptor binding domains." Nature communications **8**(1): 1-9.
- ✓ Yuen, K.-S., Z.-W. Ye, et al. (2020). "SARS-CoV-2 and COVID-19: The most important research questions." Cell & bioscience **10**(1): 1-5.
- ✓ Zang, R., M. F. G. Castro, et al. (2020). "TMPRSS2 and TMPRSS4 promote SARS-CoV-2 infection of human small intestinal enterocytes." Science immunology **5**(47).
- ✓ Zhang, W., B. D. Davis, et al. (2021). "Emergence of a novel SARS-CoV-2 variant in Southern California." Jama **325**(13): 1324-1326.
- ✓ Zhong, N., B. Zheng, et al. (2003). "Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People's Republic of China, in February, 2003." The Lancet **362**(9393): 1353-1358.
- ✓ Zhou, P., X.-L. Yang, et al. (2020). "A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin." Nature **579**(7798): 270-273.
- ✓ Zhou, Y., Y. Hou, et al. (2020). "Network-based drug repurposing for novel coronavirus 2019-nCoV/SARS-CoV-2." Cell discovery **6**(1): 1-18.
- ✓ Zhu, N., D. Zhang, et al. (2020). "A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019." New England Journal of Medicine.

## Résumé

L'objectif de cette présente étude est de se concentrer sur l'étude *in silico* pour cribler un médicament alternatif pouvant bloquer l'activité du domaine de liaison au récepteur de pointe SARS-CoV-2 lié au récepteur ACE2, cible thérapeutique potentielle du COVID-19 virus utilisant des composés naturels (gamma terpinène et gamma cadinene), composés d'origine végétale.

Dans notre étude, *in silico*, nous avons suivi la méthode du docking moléculaire en utilisant le logiciel PyRx et le programme CB-DOCK pour étudier les interactions moléculaires, les énergies de liaison entre ces molécules et la protéine cible ayant le code PDB (6M0J).

Les résultats ont montré que le gamma terpinene avait une bonne affinité à la protéine par rapport au gamma cadinene en utilisant gamma cadinene. Contrairement aux résultats obtenus par CB-DOCK, le gamma cadinene a montré une meilleure affinité. Cette étude est une étude préliminaire, d'autres études sont nécessaire pour confirmer nos résultats et prouver que gamma terpinene et gamma cadinene sont de bon inhibiteurs.

**Mots clés :** SARS-CoV-2,  $\gamma$ -terpinene,  $\gamma$ -cadinene, 6M0J.

## Abstract

The objective of this present study is to focus on the *in silico* study to screen an alternative drug that can block the activity of the SARS-CoV-2 peak receptor binding domain linked to the ACE2 receptor, a potential therapeutic target of COVID-19 viruses using natural compounds (gamma terpinene and gamma cadinene), compounds of plant origin.

In our study, *in silico*, we followed the molecular docking method using PyRx software and the CB-DOCK program to study molecular interactions, binding energies between these molecules and the target protein with the PDB code (6M0J).

The results showed that gamma terpinene have good protein affinity compared to gamma cadinene using PyRx. Contrary to the results obtained by CB-DOCK, gamma cadinene showed better affinity. This study is a preliminary study, more studies are needed to confirm our results and to prove th at gamma terpinene and gamma cadinene are good inhibitors.

**Keywords:** SARS-CoV-2,  $\gamma$ -terpinene,  $\gamma$ -cadinene, 6M0J.

## ملخص

الهدف من هذه الدراسة الحالية هو التركيز على دراسة بالمحاكاة في الكمبيوتر لفحص دواء بديل يمكنه منع نشاط مجال ارتباط مستقبلات ذروة سارس-كوف-2 المرتبط بمستقبل ACE2 ، وهو هدف علاجي محتمل لفيروسات covid19 باستخدام مركبات طبيعية (جاما تيربينين وجاما كادينين) مركبات من أصل نباتي.

في دراستنا بمحاكاة في الكمبيوتر، اتبعنا طريقة الالتحام الجزيئي باستخدام برنامج PyRx وبرنامج CB-DOCK لدراسة التفاعلات الجزيئية، وطاقات الربط بين هذه الجزيئات والبروتين المستهدف برمز PDB (6M0J).

أظهرت النتائج أن جاما تيربينين لها تقارب بروتيني جيد مقارنة بجاما كادينين باستخدام PyRx. على عكس النتائج التي تم الحصول عليها بواسطة CB-DOCK ، أظهر جاما كادينين تقاربًا أفضل. هذه الدراسة هي دراسة أولية، وهناك حاجة إلى مزيد من الدراسات لتأكيد نتائجنا ولإثبات أن جاما تيربينين وجاما كادينين مثبطات جيدة.

✓ **الكلمات المفتاحية:** سارس-كوف-2، جاما-تيربينين، جاما كادينين ، 6M0